

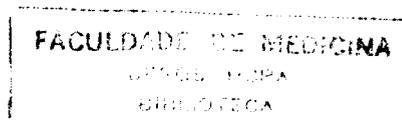
**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CARDIOLOGIA**

**RETROPERFUSÃO MIOCÁRDICA:  
FISIOLOGIA, BASES EXPERIMENTAIS E APLICAÇÕES CLÍNICAS**

**ROBERTO VIEIRA HAENDCHEN**  
Orientador: Prof. Dr. Jorge Pinto Ribeiro

Tese apresentada ao Curso de Pós-  
Graduação em Medicina: Cardiologia, para  
obtenção do Título de Doutor.

**PORTO ALEGRE, 1996**



20067

MED  
T  
WG280 H135r 1996

05187130

[000192508] Haendchen, Roberto Vieira.  
Retroperfusao miocardica : fisiologia, bases  
experimentais e applicacoes clinicas. 1996. xiv,  
238 f. : il. color.

20067

**Dedicatória:**

Este trabalho é dedicado à memória de meu pai, Aluizio Haendchen, a minha mãe Clélia, a minha esposa Laís e a minha filha Letícia.

## AGRADECIMENTOS

- Dr. Eliot Corday, cardiologista, cientista pesquisador e chefe de pesquisa, Cedars - Sinai Medical Center, e Professor de Medicina, Universidade da Califórnia em Los Angeles, USA.
- Dr. HJC Swan, Chefe da divisão de Cardiologia, Cedars - Sinai Medical Center, e Professor de Medicina, Universidade da Califórnia em Los Angeles.
- Dr. William Ganz, cardiologista e cientista pesquisador, Cedars - Sinai Medical Center, e Professor de Medicina, Universidade da Califórnia em Los Angeles.
- Dr. Samuel Meerbaum, bioengenheiro e cientista pesquisador, Cedars - Sinai Medical Center, e Professor Associado, Universidade da Califórnia em Los Angeles.
- Dr. Michael Fishbein, patologista e cientista pesquisador, Cedars - Sinai Medical Center, e Professor Assistente de Patologia, Universidade da Califórnia em Los Angeles.
- Jeanne Bloom, secretária geral, Divisão de Cardiologia, Cedars - Sinai Medical Center, Los Angeles, Califórnia. (in memoriam).
- Myles Prevost, técnico em laboratório de cateterismo cardíaco, Cedars - Sinai Medical Center, Los Angeles, Califórnia.
- Dr. Prediman Shah, cardiologista e Chefe da Unidade Coronária, Cedars - Sinai Medical Center, e Professor Associado, Universidade da Califórnia em Los Angeles.
- Dr. Neil Eigler, cardiologista e Co-Diretor, Laboratório de Cateterismo Cardíaco, Cedars - Sinai Medical Center, e Professor Assistente de Medicina, Universidade da Califórnia em Los Angeles.
- Dr. Gerald Maurer, cardiologista e Chefe do Laboratório de Ecocardiografia, Cedars - Sinai Medical Center, e Professor Associado de Cardiologia, Universidade da Califórnia em Los Angeles.
- Dr. Daniel Berman, cardiologista e Chefe do Setor de Cardiologia Nuclear, Cedars - Sinai Medical Center, e Professor Associado de Cardiologia, Universidade da Califórnia em Los Angeles.
- Vanessa Cordeiro, secretária geral, Clínica Pace, Curitiba.
- Retroperfusion Systems, Inc., Costa Mesa, Califórnia.

## LISTA DE PUBLICAÇÕES RESULTANTES DESTA ESTUDO:

- PROTOCOLO 1:  
Wakida Y, Haendchen R V, Kobayashi S, Nordlander R, Corday E: Percutaneous cooling of ischemic myocardium by hypothermic retroperfusion of autologous arterial blood: effects on regional myocardial temperature distribution and infarct size. *J Am Coll Cardiol* 18: 293-300, 1991
- PROTOCOLO 2:  
Meerbaum S, Haendchen RV, Corday E, Povzhitkov M, Fishbein MC, Rit J, Lang TW, Uchiyama T, Aosaki N, Broffman J: Hypothermic coronary venous phased retroperfusion: A closed-chest treatment of acute regional myocardial ischemia. *Circulation* 65: 1435-1445, 1981  
  
Haendchen RV, Corday E, Meerbaum S: Hypothermic synchronized retroperfusion for the treatment of acutely ischemic myocardium. *Compr Ther* 8: 7-15, 1982
- PROTOCOLO 3:  
Haendchen RV, Corday E, Meerbaum S, Povzhitkov M, Rit J, Fishbein MC: Prevention of ischemic injury and early reperfusion derangements by hypothermic retroperfusion. *J Am Coll Cardiol* 4: 1067-1080, 1983
- PROTOCOLO 4:  
Wakida Y, Nordlander R, Kobayashi S, Kar S, Haendchen R V, Corday E: Short-term synchronized retroperfusion before reperfusion reduces infarct size after prolonged ischemia in dogs. *Circulation* 88: 2370-2380, 1993
- PROTOCOLO 5:  
Povzhitkov M, Haendchen RV, Meerbaum S, Fishbein MC, Shell W, Corday E: Prostaglandin E - 1 coronary venous retroperfusion in acute myocardial ischemia: effects on regional left ventricular function and infarct size. *J Am Coll Cardiol* 3: 939-947, 1984
- PROTOCOLO 6:  
Meerbaum S, Lang TW, Povzhitkov M, Haendchen RV, Uchiyama T, Corday E. Retrograde lysis of coronary artery thrombus by coronary venous streptokinase administration. *J Am Coll Cardiol*: 1262-1267, 1983.  
  
Miyazaki A, Tadokoro H, Drury JK, Ryden L, Haendchen RV, Corday E. Retrograde coronary venous administration of recombinant tissue-type plasminogen activator: a unique and effective approach to coronary thrombolysis. *J Am Coll Cardiol* 18: 613-620, 1991
- PROTOCOLO 7:  
Ryden L, Tadokoro H, Sjoquist PO, Regardt C, Kobayashi S, Corday E, Drury JK, Pharmacokinetic analysis of coronary venous retroinfusion: a comparison with

antegrade coronary artery drug administration using metoprolol as a tracer. Em "Seminar on coronary venous delivery systems for support and salvage of jeopardized ischemic myocardium - II". Editores, Corday E, Haendchen RV. J Am Coll Cardiol 18: 603-612, 1991

• PROTOCOLO 8:

Kabayashi S, Tadokoro H, Wakida Y, Kar S, Nordlander R, Haendchen RV, Corday E. Coronary venous retroinfusion of deferoxamine reduces infarct size in pigs. Em "Seminar on coronary venous delivery systems for support and salvage of jeopardized ischemic myocardium - II" Editores, Corday E, Haendchen RV. J Am Coll Cardiol 18: 621-627, 1991

• PROTOCOLO 9:

Tadokoro H, Kobayashi S, Wakida Y, Haendchen RV, Corday E. Myocardial protection with retrograde coronary venous administration of adenosine after acute coronary artery occlusion and reperfusion in pigs. Submetido para publicação, J Am Coll Cardiol.

• PROTOCOLO 10:

Kar S, Drury JK, Hajduczki I, Eigler N, Wakida Y, Litvack F, Buchbinder N, Marcus H, Nordlander R, Corday E. Synchronized coronary venous retroperfusion for support and salvage of ischemic myocardium during effective and failed angioplasty. Em "Seminar on coronary venous delivery systems for support and salvage of jeopardized ischemic myocardium - I". Editores, Corday E e Haendchen RV. J Am Coll Cardiol 18: 271-282, 1991

Haendchen RV, Corday E. Coronary sinus interventions: State of the art and initial clinical experience with retroperfusion support during angioplasty. Arq Bras Cardiol 54: 293-305, 1990

Haendchen RV, Corday E. Temporary circulatory assist during high-risk coronary angioplasty: which technique for which patients? Arq Bras Cardiol 56: 341-348, 1991

Hajduczki I, Kar S, Areeda J, Ryden L, Corday S, Haendchen RV, Corday E: Reversal of chronic regional myocardial dysfunction (hibernating myocardium) by synchronized diastolic coronary venous retroperfusion during coronary angioplasty. J Am Coll Cardiol 15: 238-242, 1990

• PROTOCOLO 11:

Costantini C, Sampaolesi A, Serra CM, Pacheco G, Neuburger S, Conci E, Haendchen RV. Coronary venous retroperfusion support during high-risk angioplasty in patients with unstable angina: preliminary experience. Em "Seminar on coronary venous delivery systems for support and salvage of jeopardized ischemic myocardium - I"; Editores, Corday E e Haendchen RV. J Am Coll Cardiol 18: 283-292, 1991

## ÍNDICE

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2 ANATOMIA E FISIOLOGIA DA CIRCULAÇÃO VENOSA CORONÁRIA .....</b>	<b>3</b>
2.1 ANATOMIA DAS VEIAS CORONÁRIAS .....	3
2.2 FISIOLOGIA DA CIRCULAÇÃO VENOSA CORONÁRIA .....	9
2.2.1 FLUXO VENOSO CORONÁRIO E CAPACITÂNCIA VENOSA INTRAMIOCÁRDICA .....	9
2.2.2 DISTRIBUIÇÃO DA PRESSÃO INTRAMIOCÁRDICA DURANTE O CICLO CARDÍACO .....	10
<b>3 MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>12</b>
3.1 HISTÓRICO DA RETROPERFUSÃO E DA SUA UTILIZAÇÃO PARA REVASCULARIZAÇÃO MIOCÁRDICA. ....	12
<b>4 MODALIDADES DE RETROPERFUSÃO .....</b>	<b>14</b>
4.1 ARTERIALIZAÇÃO SELETIVA DAS VEIAS CORONÁRIAS. ....	15
4.2 OCLUSÃO INTERMITENTE DO SEIO CORONÁRIO .....	16
4.3 RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA DO MIOCÁRDIO: CONCEITO E MECANISMOS. ....	17
<b>5 DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL DA RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA. ....</b>	<b>21</b>
5.1 A BOMBA E O CATÉTER DE RETROPERFUSÃO E SUA EVOLUÇÃO.....	21
5.2 ESTUDOS INICIAIS DA RETROPERFUSÃO DIASTÓLICA SINCRONIZADA .....	27
5.2.1 RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA EM CÃES COM TÓRAX ABERTO .....	27
5.2.2 RETROPERFUSÃO DIASTÓLICA SINCRONIZADA EM CÃES COM TÓRAX FECHADO .....	33
5.3 RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA HIPOTÉRMICA .....	36
5.3.1 DISTRIBUIÇÃO DA TEMPERATURA MIOCÁRDICA REGIONAL DURANTE A RETROPERFUSÃO HIPOTÉRMICA (PROTOCOLO 1).....	36
5.3.2 RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA HIPOTÉRMICA EM CÃES COM TÓRAX FECHADO PARA O TRATAMENTO DA ISQUEMIA MIOCÁRDICA AGUDA (PROTOCOLO 2) .....	49
5.4 O USO DA RETROPERFUSÃO PARA PREVENIR INJÚRIA DE REPERFUSÃO .....	62
5.4.1 RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA HIPOTÉRMICA PREVINE A INJÚRIA DA REPERFUSÃO APÓS OCLUSÃO CORONÁRIA AGUDA (PROTOCOLO 3).....	62
5.4.2 RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA DE CURTA DURAÇÃO REDUZ O TAMANHO DO INFARTO APÓS ISQUEMIA PROLONGADA EM CÃES (PROTOCOLO 4) .....	79

<b>5.5 RETROPERFUSÃO MIOCÁRDICA SINCRONIZADA ASSOCIADA À RETROINFUSÃO DE DROGAS CARDIOATIVAS PARA A PROTEÇÃO DO MIOCÁRDIO ISQUÊMICO.....</b>	<b>99</b>
5.5.1 RETROPERFUSÃO MIOCÁRDICA SINCRONIZADA ASSOCIADA À RETROINFUSÃO DE PROSTAGLANDINA E-1 DURANTE OCLUSÃO ARTERIAL CORONÁRIA AGUDA: EFEITOS NA FUNÇÃO MIOCÁRDICA REGIONAL E NO TAMANHO DO INFARTO (PROTOCOLO 5). .....	100
5.5.2 LISE RETRÓGRADA DE TROMBO ARTERIAL CORONÁRIO ATRAVÉS DA ADMINISTRAÇÃO DE ESTREPTOQUINASE PELO SEIO CORONÁRIO (PROTOCOLO 6).109	
5.5.3 ANÁLISE FARMACOCINÉTICA DA RETROINFUSÃO CORONÁRIA: UMA COMPARAÇÃO COM ADMINISTRAÇÃO ARTERIAL CORONÁRIA USANDO METOPROLOL COMO AGENTE TRAÇADOR (PROTOCOLO 7). .....	116
5.5.4 RETROINFUSÃO DO VARREDOR DE RADICAIS LIVRES DEFERROXAMINA REDUZ O TAMANHO DO INFARTO EM PORCOS SUBMETIDOS À OCLUSÃO ARTERIAL CORONÁRIA (PROTOCOLO 8). .....	134
5.5.5 PROTEÇÃO MIOCÁRDICA COM RETROINFUSÃO DE ADENOSINA EM PORCOS SUBMETIDOS À OCLUSÃO ARTERIAL CORONÁRIA AGUDA E REPERFUSÃO (PROTOCOLO 9). .....	148
<b>6 ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS DE SEGURANÇA E EFICÁCIA DA RETROPERFUSÃO MIOCÁRDICA E EXPERIÊNCIA INICIAL EM SERES HUMANOS.....</b>	<b>162</b>
6.1 DEMONSTRAÇÃO DE QUE A RETROPERFUSÃO RESTAURA A PERFUSÃO MIOCÁRDICA REGIONAL E PRESERVA O METABOLISMO DURANTE ISQUEMIA AGUDA ATRAVÉS DA TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PÓSITRONS. ....	162
6.2 RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA DO MIOCÁRDIO: ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS DE SEGURANÇA E EFICÁCIA NO TRATAMENTO DA ISQUEMIA MIOCÁRDICA AGUDA. ....	168
6.3 ESTUDOS CLÍNICOS PRELIMINARES DE SEGURANÇA E EFICÁCIA DA RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA DURANTE ANGIOPLASTIA CORONÁRIA (PROTOCOLO 10).....	171
6.4 RETROPERFUSÃO MIOCÁRDICA DURANTE ANGIOPLASTIA EM PACIENTES COM ANGINA INSTÁVEL: EXPERIÊNCIA INICIAL (PROTOCOLO 11).....	191
<b>7 DISCUSSÃO GERAL .....</b>	<b>210</b>
<b>8 CONCLUSÕES.....</b>	<b>213</b>
<b>9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>215</b>

## RESUMO

Um sistema de bomba e cateteres para retroperfusão miocárdica (através das veias coronárias) foi desenvolvido para estudar o seu efeito em animais e seres humanos submetidos a oclusão arterial coronária aguda.

Numa primeira fase foram estudados os efeitos da retroperfusão diastólica sincronizada (SRP) sobre a extensão da isquemia e a função miocárdica em cães com tórax aberto. Nestes estudos documentou-se uma redução significativa na elevação do segmento ST em eletrocardiogramas epicárdicos, assim como uma melhora substancial na força de contração miocárdica nos animais tratados com SRP, comparados a animais não-tratados. Experiências similares em cães com tórax fechado foram feitas para avaliar os efeitos da SRP sobre a extensão da necrose miocárdica. Cães tratados com SRP tiveram uma necrose de apenas  $3,3 \pm 1,8\%$  comparada a  $16,3 \pm 4,8\%$  da massa ventricular esquerda no grupo controle.

A seguir, estudou-se os efeitos da SRP hipotérmica (com sangue arterial esfriado a  $15^{\circ}\text{C}$ ), na distribuição da temperatura miocárdica em cães com tórax aberto submetidos a oclusão da artéria descendente anterior, comparados a SRP normotérmica e a um grupo controle. As temperaturas das regiões proximal e distal da parede anterior caíram rápida e progressivamente atingindo diferenças estatisticamente significativas em relação aos outros 2 grupos já nos primeiros 15 minutos de tratamento. Num outro estudo mais detalhado em cães com tórax fechado, foram avaliados os efeitos da SRP hipotérmica sobre parâmetros hemodinâmicos, função ventricular e extensão da necrose. Foram estudados 3 grupos de cães com oclusão da artéria descendente anterior por um período de 6 horas; no primeiro grupo, SRP hipotérmica foi iniciada aos 30 minutos de oclusão, o segundo grupo recebeu SRP normotérmica e o terceiro grupo serviu como controle. Observou-se uma redução significativa dos volumes diastólico e sistólico final, melhora da fração de ejeção global e regional do ventrículo esquerdo e redução do tamanho do infarto no grupo tratado com SRP hipotérmica.

O próximo passo foi testar o uso da SRP (uma forma de reperfusão gradual), para prevenir a injúria da reperfusão. Cães foram submetidos a 3 horas de

oclusão coronária seguida de reperfusão por 7 dias. O grupo tratado recebeu SRP hipotérmica entre 30 e 180 minutos de oclusão, enquanto que o grupo controle não recebeu tratamento. Observou-se uma melhora na função ventricular global e regional no grupo tratado, bem como uma redução significativa da área infartada. Além disso, no grupo não tratado houve um aumento acentuado da espessura diastólica da parede ventricular nas regiões isquêmicas, um sinal de edema miocárdico. Um segundo estudo experimental foi desenhado para avaliar o efeito da SRP de curta duração precedendo a reperfusão, ou seja, reestabelecimento parcial do fluxo através da SRP seguido de reperfusão total. A hipótese foi de que esta seqüência reduziria a injúria da reperfusão. Foram estudados dois grupos de cães com oclusão coronária de 150 minutos; o grupo controle recebeu reperfusão súbita e completa, enquanto que o grupo tratado recebeu SRP por 30 minutos, seguido de reperfusão completa. Embora não tenham ocorrido diferenças significativas em termos de fluxo coronário entre os grupos, o tamanho do infarto em relação a área de risco foi menor no grupo tratado com SRP, e a espessura diastólica da parede na região isquêmica foi estatisticamente maior no grupo controle, como também foi maior a extensão da hemorragia miocárdica.

Em outra série de experimentos, retroinfusão de drogas cárdio-ativas foi feita através das veias coronárias, e comparada a injeção sistêmica da droga, após oclusão arterial coronária. Em dois estudos piloto, primeiro foram estudados os efeitos da prostaglandina E-1, onde observou-se melhora da função miocárdica na área isquêmica e redução no tamanho do infarto, comparado ao grupo que recebeu a droga por via endovenosa. Num segundo estudo em cães, foi comparado o tempo de lise de um trombo na artéria descendente anterior após infusão de estreptoquinase por via sistêmica ou através das veias coronárias. O tempo de lise do trombo foi significativamente menor no grupo que recebeu retroinfusão do trombolítico. De posse destes dados, foi feito um estudo em porcos para estudar a farmacocinética da retroinfusão de drogas. Comparando a infusão de metoprolol marcado com trítio pela veia cardíaca maior com metoprolol não-marcado intravenoso, a concentração da droga foi de 15 a 100 vezes maior nas regiões isquêmicas no grupo da retroinfusão, comparado a infusão sistêmica. Dois outros estudos foram feitos em porcos com oclusão coronária seguida de reperfusão, utilizando a retroinfusão de deferroxamina

e de adenosina, agentes que diminuem a injúria de reperfusão, onde foram constatados redução significativa do tamanho do infarto.

A próxima etapa da pesquisa seriam os estudos pré-clínicos de eficácia e segurança da SRP. Num primeiro estudo foi utilizada a tomografia por emissão de pósitrons, a fim de demonstrar se a SRP melhorava a perfusão e o metabolismo do miocárdio isquêmico, o que foi claramente demonstrado em cães. A seguir, foram feitos estudos visando o efeito da SRP sobre elementos sanguíneos (glóbulos vermelhos e plaquetas) e sobre o miocárdio, com análises do grau de edema, lesões perivasculares e nas próprias veias coronárias. Estes estudos em cães não evidenciaram quaisquer efeitos adversos da SRP. O propósito do primeiro estudo clínico foi de determinar a segurança e a eficácia da SRP em pacientes submetidos a oclusão coronária durante angioplastia. O estudo foi feito em 43 pacientes com angina estável, nos quais foram avaliados o tempo de início e a intensidade da angina após oclusão coronária, durante insuflações tratadas ou não tratadas com SRP, bem como o eletrocardiograma, parâmetros hemodinâmicos e de função ventricular esquerda. Foram também analisados efeitos sobre os glóbulos vermelhos, hemoglobina livre e plaquetas. Os resultados indicaram que o método é seguro, pois não houve complicações da SRP. Em relação a eficácia observou-se uma redução na severidade da angina, menos alterações no segmento ST e fração de ejeção mais alta durante as insuflações tratadas com SRP.

Um segundo estudo clínico foi realizado em pacientes com angina instável submetidos a angioplastia coronária. Foram incluídos 20 pacientes e analisados o débito cardíaco por termodiluição e a função global e regional do ventrículo esquerdo através de ventriculografia contrastada. Insuflações do balonete do catéter de angioplastia foram tratadas ou não com SRP. Observou-se um aumento significativo do débito cardíaco e da fração de ejeção, bem como melhora da contração miocárdica nas regiões isquêmicas durante as insuflações tratadas com SRP, comparando com oclusões não-tratadas. Não ocorreram mortes ou complicações relacionadas à SRP. Portanto, estes estudos clínicos preliminares indicam que a retroperfusão diastólica sincronizada é um método seguro e melhora a

isquemia miocárdica induzida por oclusão temporária da artéria coronária durante angioplastia.

## ABSTRACT

A retroperfusion pump and catheter system was developed for myocardial retroperfusion through the coronary veins in order to study its effects in animals and humans undergoing acute coronary artery occlusion.

The first step was to study the effects of diastolic synchronized retroperfusion (SRP) on the extent of myocardial ischemia and function in open-chest dogs. These studies indicated a significant reduction in epicardial ST segments as well as substantial improvement in myocardial contractile force in dogs treated with SRP, compared to untreated animals. Similar studies were conducted in closed-chest dogs to investigate the effects of SRP on myocardial necrosis. SRP treated dogs developed necrosis of only  $3.3 \pm 1.8\%$  of left ventricular mass compared to  $16.3 \pm 4.8$  in the control group.

In the next step, hypothermic SRP (with arterial blood cooled to  $15^{\circ}\text{C}$ ) and its effects on myocardial temperature distribution were studied in open-chest dogs undergoing occlusion of the left anterior descending coronary artery, and then compared to normothermic SRP, and a control group. Myocardial temperatures in the proximal and distal anterior wall fell rapidly and progressively with significant differences (compared to the other 2 groups) achieved in the first 15 minutes of hypothermic SRP. In another more detailed study in closed-chest dogs, the effects of hypothermic SRP on hemodynamics, left ventricular function and myocardial necrosis were evaluated. Three groups of dogs underwent a 6 hour left anterior descending coronary artery occlusion; in the first group, hypothermic SRP was applied from 30 minutes to 6 hours of occlusion, and the second group received normothermic SRP, whereas the third group served as control. There was a significant reduction in left ventricular end-diastolic and end-systolic volumes, as well as an improvement in global and regional ejection fraction in the hypothermic SRP group, as opposed to a progressive deterioration in the control group. Infarct size was significantly smaller in the hypothermic SRP group.

In another study we investigated the effects of SRP ( a gradual reperfusion mode) on reperfusion injury. Closed-chest dogs underwent 3 hours of coronary artery occlusion followed by 7 days reperfusion. The treated group received hypothermic SRP from 30 to 180 minutes of the occlusion period, whereas the control group received no treatment. Regional and global left ventricular function improved in the treated group, and there was a significant reduction in infarct size. Furthermore, left ventricular end-diastolic wall thickness in the ischemic zone increased significantly in the untreated group, a marker of myocardial edema associated with reperfusion. A second experimental study was designed to evaluate the effects of short-term SRP preceding reperfusion, that is, partial re-establishment of blood flow followed by full reperfusion. The hypothesis was that this sequence would reduce reperfusion injury. Two groups of dogs with 150 minute coronary occlusion were studied; the control groups received sudden and full reperfusion whereas the treated group received SRP for 30 minutes followed by full reperfusion. Although there were no differences in ischemic zone coronary blood flow between the groups, infarct size (relative to risk area) was significantly smaller in the treated group, and end-diastolic wall thickness was statistically increased in the control group as well as the extent of myocardial hemorrhages in the infarcted area.

In another series of experiments, we tested the efficacy of retroinfusion of cardioactive drugs through the coronary veins, and compared to systemic intravenous administration. In two pilot studies, first we compared coronary venous against intravenous infusion of prostaglandin E-1 in dogs with coronary occlusion, and observed significant improvement in ischemic zone myocardial function and infarct size reduction in the retroinfusion group. In a second study, time to lyses of a thrombus in the left anterior descending coronary artery was studied following coronary venous retroinfusion or peripheral venous infusion of streptokinase. Thrombolysis was significantly shorter in the retroinfusion group. Next the pharmacokinetics of drug retroinfusion was studied in pigs. Retroinfusion of tritium-labeled metoprolol through the great cardiac vein was compared with unlabeled metoprolol given intravenously. Myocardial drug concentration in ischemic regions was 15 to 100 times greater in the retroinfusion compared to the intravenous group. Two other studies were performed in pigs subjected to acute coronary artery

occlusion followed by reperfusion, using deferoxamine and adenosine, agents that reduce reperfusion injury. In these two studies there was a significant infarct size reduction in the retroinfusion groups.

The next research steps were the pre-clinical safety and efficacy studies. The efficacy study employed positron emission tomography in order to demonstrate improved perfusion and metabolism in dogs treated with SRP, which was clearly demonstrated. In a separate study, the effects of SRP on red cells and platelets as well as on coronary veins and myocardial water content were investigated. These studies demonstrated no adverse effects of SRP. The purpose of the first clinical study was to determine the safety and efficacy of SRP in patients undergoing acute occlusion during coronary artery angioplasty. The study was performed in 43 patients with stable angina. Severity of angina, time to chest pain, electrocardiographic ST segment changes, hemodynamics and echocardiographic left ventricular function were studied during untreated and SRP-treated balloon inflations during angioplasty. The effects on red cells, free-hemoglobin and platelets were also studied. The results indicated that SRP is safe and there were no complications related to the procedure. Furthermore, there was a significant reduction in angina severity, less ST segment changes and improved ejection fraction during SRP treated compared to untreated inflations .

A second clinical study was conducted in 20 patients with unstable angina undergoing coronary angioplasty. Thermodilution cardiac output and angiographic global and regional left ventricular function were the primary end-points of the study. Angioplasty balloon inflations were treated or untreated with coronary venous SRP. There was a significant improvement in cardiac output and global and regional left ventricular function in the ischemic regions during treated balloon inflations compared to untreated inflations. There were no SRP complications or deaths during the study. Therefore, these preliminary studies indicate that synchronized diastolic coronary venous retroperfusion is safe and improves myocardial ischemia induced by temporary coronary artery occlusion during angioplasty.

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a terapia intervencionista tem mudado sensivelmente as técnicas de tratamento da doença arterial coronária. As indicações, bem como as técnicas usadas para esses tipos de tratamento, poderiam mudar radicalmente se houvesse uma forma segura e eficaz de proteger o miocárdio isquêmico durante estas intervenções, facilitando manobras terapêuticas intracoronárias. Recentemente, um número cada vez maior de pacientes com lesões coronárias graves, e portanto de alto risco, têm sido submetidos a estes tratamentos intervencionistas não-cirúrgicos. Nestes casos, a interrupção do fluxo coronário por períodos variáveis de tempo representa um risco maior de complicações graves durante o procedimento, aumentando consideravelmente o risco destas intervenções.

O sistema venoso coronário, que é livre de obstruções ateroscleróticas, oferece uma via natural para administração percutânea retrógrada de sangue arterial e de agentes terapêuticos, possibilitando a redução ou até abolição da isquemia miocárdica provocada pela interrupção do fluxo sangüíneo pelas artérias coronárias durante tais procedimentos.

Portanto, a retroperfusão tem o potencial não só de servir como terapia primária em casos de isquemia miocárdica aguda, como também servir de suporte circulatório em casos de intervenções coronárias de alto risco. Outra aplicação possível seria como método de resgate de pacientes que sofrem oclusão coronária abrupta durante ou imediatamente após angioplastia, complicação esta que ocorre em 4 a 8% dos casos.

O objetivo geral desta pesquisa é de investigar a eficácia da retroperfusão sincronizada de sangue arterial através do seio coronário para proteção do miocárdio isquêmico, bem como estudar a eficácia da retroinfusão de drogas cardioativas, associadas ou não a retroperfusão de sangue arterial.

O sistema básico extracorpóreo, bem como a bomba de retroperfusão e os catéteres específicos, têm sido desenvolvidos ao longo dos últimos anos, atingindo um grau de adequação técnica satisfatório, tanto para uso experimental como clínico.

O potencial de aplicabilidade destas técnicas parece bastante amplo, e inclui várias modalidades, como a retroperfusão miocárdica direcionada para áreas inacessíveis pela via anterógrada, a retroperfusão hipotérmica de sangue arterial infundido a baixas temperaturas, a retroperfusão suplementada por drogas cardioprotetoras, e também a retroinfusão isolada de fármacos, inclusive de agentes trombolíticos.

Com o objetivo de permitir o uso destas várias modalidades de intervenção através do sistema venoso coronário, trabalhamos inicialmente com engenheiros, visando uma melhora nos protótipos da bomba de retroperfusão, e mais recentemente esforços foram concentrados a fim de refinar o mecanismo de operação do catéter de retroperfusão.

## **2 ANATOMIA E FISIOLOGIA DA CIRCULAÇÃO VENOSA CORONÁRIA**

### **2.1 ANATOMIA DAS VEIAS CORONÁRIAS**

A drenagem venosa do coração compreende 3 grandes sistemas: a) O seio coronário e suas veias tributárias; b) As veias cardíacas anteriores, e c) as pequenas veias cardíacas de Thebesius. Apesar de inúmeros estudos realizados, particularmente na metade do século, existem muitas discrepâncias sobre a nomenclatura das veias do coração (1).

#### **A) O seio coronário e suas veias tributárias**

O seio coronário está situado superficialmente no sulco entre o átrio e o ventrículo esquerdo, pouco mais próximo do átrio, e praticamente em contigüidade com a parede atrial. O seio coronário tem um comprimento de 20 a 65 mm, e em mais de dois terços dos indivíduos este comprimento é de 30 a 50 mm. O diâmetro medido na sua porção média varia de 6 a 16 mm, sendo que na maioria dos casos ele mede entre 8 e 10 mm. Por definição, o seio coronário é o conduto de sangue em continuidade com a veia cardíaca maior, estando situado entre a valva da veia cardíaca maior, ou o ponto de entrada da veia oblíqua de Marshall, e a valva de Thebesius do próprio seio coronário. Do ponto de vista embrionário e de desenvolvimento, o corno esquerdo do seio é formado por uma unidade composta entre a veia de Marshall e a parte esquerda transversa do seio, os quais estão incorporados a parede atrial. Já a metade direita do seio coronário está apenas parcialmente integrada a parede do átrio direito. Isto explica a estrutura relativamente complexa da parede do seio coronário, composta por uma musculatura circular não-estriada e por uma musculatura estriada originada do miocárdio atrial, cursando longitudinalmente e fazendo uma cobertura do seio coronário (2).

O seio coronário é a parte terminal comum a várias veias bem desenvolvidas originadas do miocárdio, e que nele cursam superficialmente.

As cinco principais veias tributárias do seio coronário são as seguintes: a veia cardíaca maior, a veia posterior do ventrículo esquerdo, a veia interventricular posterior, a veia oblíqua de Marshall, e a veia cardíaca menor. Como a veia cardíaca menor está presente em apenas um terço ou menos dos casos, costuma-se dividir as tributárias do seio coronário em dois tipos: tipo 1, quando a veia cardíaca menor está ausente, e tipo 2 quando ela está presente.

*A veia cardíaca maior.* A origem desta veia ocorre pouco acima do ápice do ventrículo direito, cursando superiormente pelo sulco interventricular em direção a base do coração. Ao se aproximar do bordo entre átrio e ventrículo, a veia cardíaca maior faz uma curva de quase 90 graus, passando pouco abaixo da aurícula esquerda, para em seguida desembocar no seio coronário. Na sua parte intermediária ou ventricular, a veia cardíaca maior recebe tributárias da parte anterior do ventrículo direito, da parte ventral direita do ventrículo esquerdo e do septo interventricular. Já na sua parte mais superior, próxima ao átrio, ela recebe as pequenas veias atriais esquerdas, as quais desembocam numa veia de maior calibre em mais da metade dos casos, para depois desembocar na veia cardíaca maior. Outras veias de calibres variáveis originárias da parede ventricular esquerda drenam na veia cardíaca maior, dentre as quais estão as veias interventriculares anteriores, que geralmente são em número de duas, e que acompanham o trajeto da artéria coronária descendente anterior. Uma outra tributária calibrosa da veia cardíaca maior é a veia marginal esquerda, a qual cursa pela margem obtusa da parede ventricular esquerda. Na realidade, estas veias possuem inúmeras conexões, formando uma densa rede de veias, variando bastante na sua anatomia de um indivíduo para o outro.

*A veia posterior do ventrículo esquerdo.* Esta veia, que pode ser única ou dupla, drena sangue da superfície diafragmática do ventrículo esquerdo, estando situada entre a veia marginal esquerda e a veia interventricular posterior. A(s) veia(s) posterior do ventrículo esquerdo desemboca(m) na veia cardíaca maior ou diretamente no seio coronário.

*Veia interventricular posterior.* Esta veia origina-se próxima ao ápice do coração, transitando superiormente pela superfície diafragmática entre os ventrículos direito e esquerdo. Ela recebe sangue da metade direita da superfície diafragmática do ventrículo direito, além do sangue drenado das veias septais posteriores, proveniente do terço posterior do septo interventricular. A veia interventricular posterior drena para a veia cardíaca maior e, eventualmente, diretamente no seio coronário.

*Veia oblíqua de Marshall.* Esta veia origina-se da parte dorsal do átrio esquerdo, próximo a veia pulmonar inferior esquerda, drenando o sangue desta região para a veia cardíaca maior. Em 5 a 10% dos casos esta veia encontra-se completamente obliterada, podendo ser visualizada em forma de corda (3).

*Veia cardíaca menor.* Esta veia, quando presente, cursa no sulco entre o átrio e o ventrículo direitos, podendo desembocar na veia interventricular posterior, ou diretamente no seio coronário. Como ela está presente em apenas 25% a 30% dos casos, a veia cardíaca menor é uma tributária do seio coronário excepcional, e não regular. Ela drena sangue da porção dorsal do ventrículo direito. Em 15% dos casos esta veia tem uma tributária calibrosa que cursa paralela a veia interventricular posterior. Uma segunda tributária da veia cardíaca menor é a veia marginal direita de Galen, que cursa na margem do ventrículo direito e está presente em 25% dos casos.

## **B) As veias cardíacas anteriores.**

As veias cardíacas anteriores originam-se da superfície anterior do ventrículo direito, atravessam o sulco entre o átrio e o ventrículo direitos, e desembocam diretamente no átrio direito, sem passar pelo seio coronário. O número e calibre destas veias estão relacionados com a presença ou ausência da veia cardíaca menor, ou seja, se esta última é calibrosa, o número de veias cardíacas anteriores é pequeno, e vice-versa. A forma como estas veias desembocam no átrio direito pode ser separada ou agrupadamente, sendo que neste último caso formam um tronco na própria parede atrial direita, as vezes

dando a impressão de um seio coronário independente bem abaixo da aurícula direita (4).

As veias cardíacas anteriores podem ser divididas em três grupos: 1) as veias da superfície ventricular anterior; 2) veias atriais e 3) veias do conus arterioso e da aorta.

*Veias da superfície ventricular anterior.* A mais importante e maior delas é a veia marginal direita de Galen. Ela recebe sangue das superfícies anterior e posterior do ventrículo direito, originando-se próximo ao ápice cardíaco. Além desta veia, outras veias menores drenam sangue da superfície do ventrículo para o átrio direito, freqüentemente formando um tronco, o qual possui uma válvula no seu ponto de entrada no átrio direito.

*Veias atriais.* Estas veias habitualmente encontram-se em feixes de pequenas veias que drenam diretamente para o átrio direito. As veias da metade esquerda do septo interatrial juntam-se no tronco acima mencionado, ao passo que na metade direita do septo quase sempre se encontra uma veia mais calibrosa, que drena diretamente no átrio direito, próximo ao seio coronário.

*Veias do conus arterioso e da aorta.* Estas veias, mais comumente, desembocam num tronco venoso que drena direto para o átrio direito. Em 10 a 20% dos casos existe uma veia maior entre a aorta e o tronco da artéria pulmonar, que nasce no sulco interventricular anterior, cursando próximo a veia cardíaca maior em direção superior. Ao atingir a porção lateral do tronco pulmonar, ela cursa posteriormente entre a aorta e o átrio esquerdo, onde recebe veias do septo interatrial. Entre estas estão as veias de Cruveilhier e a veia de Zuckerkandl. A primeira nasce na região do conus arterioso e cursa posteriormente entre o átrio e ventrículo, desembocando no átrio direito. A veia de Zuckerkandl recebe tributárias da aorta e aurícula esquerda, drenando então para o átrio direito.

### C) As veias menores de Thebesius.

Estas pequenas veias, descritas inicialmente há mais de dois séculos(5), formam uma verdadeira rede conduzindo sangue das paredes dos átrios e ventrículos. Elas são mais densas nos átrios direito e esquerdo, particularmente na aurícula esquerda, sendo menos freqüentes nos ventrículos, onde estão em maior número nos músculos papilares. Estas veias drenam para pequenos troncos venosos ou diretamente nas cavidades cardíacas, constituindo uma fonte de nutrição para o miocárdio (6,7).

Como pode-se verificar pela descrição acima, as veias coronárias formam uma extensa rede de anastomoses, sendo que existem interconexões entre praticamente todos os sistemas acima descritos. Além destas conexões na superfície do coração, existem densas conexões intramurais, particularmente no ventrículo esquerdo. A Figura 1 mostra as principais veias do coração e sua drenagem para o seio coronário.

Um outro aspecto anatômico importante é a presença de valvas nas veias cardíacas (8). Uma das mais proeminentes é a valva de Thebesius, descrita por Eustachius como a "Valva de Thebesius do seio coronário". Esta valva está posicionada lateralmente na entrada do seio coronário, assumindo formas as mais variadas, sendo a mais comum a forma de meia lua. Outras valvas também são encontradas na desembocadura de veias maiores no seio coronário (9). Uma valva proeminente encontra-se na junção da veia cardíaca maior com o seio coronário, chamada valva de Vieussen, a qual pode ter até 3 cúspides, mas que parece não ter um mecanismo de oclusão satisfatório. Esta valva está bem próxima a junção da veia oblíqua de Marshall.

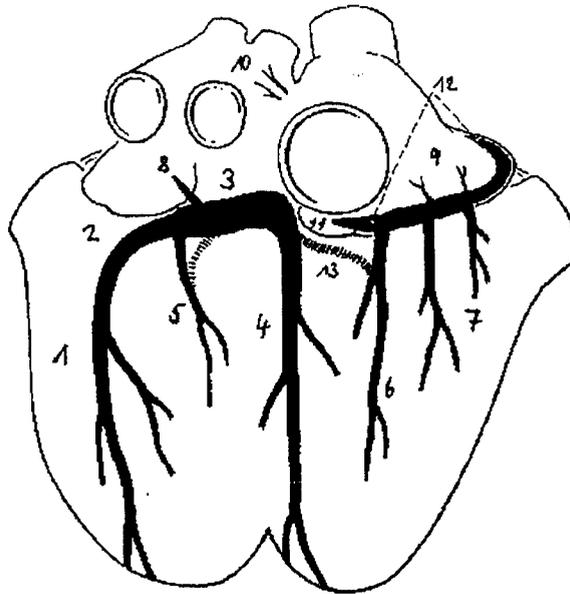


Figura 1. Diagrama do coração mostrando as principais veias da circulação venosa coronária: 1) veia interventricular anterior; 2) veia cardíaca maior; 3) seio coronário; 4) veia interventricular posterior; 5) veia posterior do ventrículo esquerdo; 6) veia marginal direita (de Galen); 7) veia anterior do ventrículo direito; 8) veia atrial esquerda oblíqua; 9) veias atriais direitas; 10) veias atriais esquerdas; 11) veias atrioventriculares; 12) seios coronários do átrio direito; 13) veia oblíqua de Marshall (ou veia cardíaca parva).

## 2.2 FISIOLOGIA DA CIRCULAÇÃO VENOSA CORONÁRIA

### 2.2.1 FLUXO VENOSO CORONÁRIO E CAPACITÂNCIA VENOSA INTRAMIOCÁRDICA.

No lado venoso da circulação coronária, os fenômenos hemodinâmicos dependem, em grande parte, de como estas estruturas se colapsam ou não frente a variações de pressão e fluxo. A pressão intramiocárdica durante a sístole aumenta da superfície epicárdica para a endocárdica. Em estado pleno de contração miocárdica, o sangue é empurrado para a frente em direção às veias, mas também retrogradamente para o lado arterial(10). A velocidade deste esvaziamento depende da resistência e complacência locais, que podem ser caracterizadas por uma constante temporal que leve em consideração estes dois fatores (constante temporal = resistência x capacitância). A presença de grandes troncos venosos e sinusóides aumentam a complacência, o que reflete diretamente no processo de esvaziamento dos vasos comprimidos durante a sístole. Pode-se dizer que o enchimento diastólico será mais prolongado quanto maior for a pressão intramiocárdica durante a sístole naquela determinada área. Além disto, um aumento na pressão venosa coronária facilitará a velocidade de enchimento por distensão dos espaços vasculares(11). Para melhor avaliar o grau de capacitância volumétrica do sistema venoso coronário, alguns pesquisadores tem utilizado velocímetros com Doppler, com boas características e estabilidade a fluxos negligenciáveis (12). Isto permite quantificar o volume intramiocárdico na ausência de stress, desde que se mantenha a pressão de perfusão coronária sob controle. Utilizando esta metodologia, pesquisadores japoneses mediram fluxo na porção periférica da veia cardíaca maior, e chegaram a conclusão que o volume intramiocárdico em diástole era aproximadamente 4 a 7% do total, e que o fluxo venoso coronário ocorre predominantemente entre as fases intermediária e final da sístole ventricular. Componentes menores de fluxo foram observados na sístole atrial e contração isovolumétrica, sendo praticamente desprezível na diástole ventricular (12). Isto tem implicações importantes para o uso da retroperfusão, já que o fluxo da retroperfusão sincronizada ocorre exclusivamente na fase diastólica.

## 2.2.2 DISTRIBUIÇÃO DA PRESSÃO INTRAMIOCÁRDICA DURANTE O CICLO CARDÍACO

A pressão gerada pela contração cardíaca produz uma compressão dos vasos coronários, aumentando a resistência ao fluxo sanguíneo. Esta resistência ao fluxo resultante da compressão aos vasos é denominada resistência extravascular (13). Para se avaliar o efeito da contração miocárdica na regulação da perfusão, é necessário medir a pressão gerada dentro da musculatura ventricular, ou pressão intramiocárdica.

Vários investigadores têm tentado medir a pressão intramiocárdica, tarefa esta dificultosa, pelo próprio trauma causado pelos métodos utilizados, pelo tamanho dos transdutores de pressão, pela resposta de frequência inadequada de alguns aparelhos, além de outros fatores. Isto tem levado à suspeita de que vários métodos têm proporcionado medidas inacuradas. Poucos anos atrás foi introduzido um transdutor com dimensões muito pequenas, permitindo medidas de pressão intramiocárdica em várias profundidades da parede ventricular. Estes micromanômetros também minimizam trauma porque ocupam um pequeno espaço, além de terem uma resposta de frequência alta e um retardo desprezível do sinal (14).

Destes estudos, foram tiradas algumas conclusões importantes, as quais têm uma implicação direta na eficácia da retroperfusão, particularmente no que tange as pressões intramiocárdicas em diástole. Uma das observações importantes é de que a pressão intramiocárdica em diástole depende primariamente da profundidade do sensor de pressão no miocárdio. Assim, em diástole final, a pressão média da região subepicárdica foi de 26 mmHg, na região subendocárdica de 14 mmHg, enquanto que nos músculos papilares a pressão média foi de 32 mmHg. Estas pressões foram consistentemente mais elevadas que a pressão diastólica final na cavidade ventricular esquerda nos cães estudados, a qual foi em média de 9 mmHg (14). Portanto, existe, fisiologicamente, um gradiente pressórico em diástole, que vai da região subepicárdica para a região subendocárdica. Já em sístole, este gradiente se

inverte, sendo a pressão subendocárdica maior que a subepicárdica. Esta pressão subendocárdica em sístole é também maior que a pressão intracavitária.

Estudos anteriores também em cães demonstraram que estes gradientes podem ser diretamente estimados utilizando curvas de pressão-fluxo da circulação coronária. Estes estudos mostraram que, a pressões de 40-50 mmHg, o fluxo coronário cessaria, condição na qual as pressões extravasculares seriam suficientes para sobrepujar a pressão de perfusão coronária, resultando numa compressão e colapamento dos vasos (15). De acordo com estes estudos, pressões diastólicas de até 50 mmHg poderiam ser encontradas nos músculos papilares, 35 mmHg na região subepicárdica, e 22 mmHg na região subendocárdica (16). Na retroperfusão, o sangue teria que cursar da região subepicárdica, onde estão o seio coronário e as veias coronárias mais calibrosas, para a região subendocárdica, o que exigiria que a pressão diastólica intravenosa durante a retroperfusão fosse maior que aqueles valores.

### 3 MARCO TEÓRICO

#### 3.1 HISTÓRICO DA RETROPERFUSÃO E DA SUA UTILIZAÇÃO PARA REVASCULARIZAÇÃO MIOCÁRDICA.

No início do século XVII, o pesquisador Adam Thebesius descreveu, pela primeira vez, em detalhes, a anatomia da circulação venosa coronária (17). Na sua tese, Thebesius menciona a importância dos canais de comunicação da circulação coronária na prevenção de acúmulo de fluidos no interstício do miocárdio ventricular. Estes "canais de comunicação", ou pequenas veias, foram posteriormente denominadas veias de Thebesius, ou sistema de Thebesius.

Muitos anos se passaram, até que, no final do século XVIII, novo interesse na circulação venosa coronária surgisse a partir dos trabalhos de Langer e Pratt, particularmente o último, que na sua experiência inicial em 1893 estudou a retroperfusão de sangue arterial em corações isolados de cães e gatos (18). Uma de suas conclusões, e que gerou controvérsias na época, foi de que a nutrição do coração de mamíferos não dependia exclusivamente da circulação arterial coronária, mas também da circulação venosa.

Outro impulso definitivo e muito importante na pesquisa da retroperfusão ocorreu nas décadas de 30 e 40. Nesta época, Claude Beck (19), Donal Gregg (20) e outros, investigaram a eficácia da oclusão do seio coronário e da arterialização do sistema venoso coronário no tratamento da isquemia miocárdica. Isto, evidentemente, precedeu em muitos anos as tentativas de revascularização cirúrgica arterial coronária. As observações de Beck e colaboradores, e o sucesso das primeiras experiências, levaram à aplicação clínica da cirurgia de Beck. Esta consistia na criação de um "shunt" de sangue arterial entre a aorta e o seio coronário, o qual era subseqüentemente ligado, a fim de elevar a pressão nas veias coronárias e forçar a perfusão retrógrada em direção as áreas isquêmicas (19). Os

resultados iniciais desta cirurgia foram positivos, já que os pacientes apresentaram melhora dos sintomas. Infelizmente, os resultados a médio e longo prazo não foram satisfatórios, devido a problemas decorrentes da elevação excessiva da pressão venosa coronária, o que levava inexoravelmente a um edema miocárdico incontrolável e hemorragias intramurais. Este fato levou a um desencantamento com este tipo de intervenção cirúrgica, o qual, associado ao pobre conhecimento da fisiologia da circulação venosa coronária, culminou com o esquecimento da cirurgia de Beck.

#### 4 MODALIDADES DE RETROPERFUSÃO

Existem, basicamente, três formas ou modalidades de retroperfusão miocárdica: 1) arterialização seletiva da veia coronária através de uma anastomose entre a aorta e uma veia coronária regional; 2) oclusão intermitente do seio coronário, cujo mecanismo envolve um redirecionamento da drenagem venosa coronária, e 3) retroperfusão diastólica sincronizada, que consiste na retroperfusão de sangue arterial em diástole. A primeira modalidade obviamente requer uma intervenção cirúrgica, enquanto que as duas últimas consistem em técnicas percutâneas de retroperfusão.

#### 4.1 ARTERIALIZAÇÃO SELETIVA DAS VEIAS CORONÁRIAS.

Este método de retroperfusão cirúrgica consiste na anastomose de um enxerto de veia safena entre a aorta e uma ou mais veias coronárias. Os primeiros trabalhos publicados utilizando esta técnica datam de 1974, e descrevem resultados satisfatórios (21). Em animais de laboratório, pode-se induzir isquemia aguda através da oclusão da artéria descendente anterior. Após um período isquêmico, cães foram submetidos a interposição de veia safena entre a aorta e a veia interventricular anterior, a qual era ligada na sua porção cefálica para evitar um curto-circuito arteriovenoso. Três a cinco meses após a cirurgia, os cães foram reexaminados no que diz respeito a patência do enxerto, fluxo através do mesmo e perfusão miocárdica, utilizando microsferas radioativas, e avaliação *post-mortem* para analisar a extensão de necrose, grau de edema e presença de hemorragias miocárdicas (22,23). Os resultados mostraram que, comparados ao grupo controle, os cães submetidos a retroperfusão cirúrgica tiveram uma mortalidade menor, além de um aumento na perfusão miocárdica, particularmente na região subendocárdica. Além disto, não se observou edema excessivo ou hemorragias extensas, como no procedimento de Beck.

Arterialização cirúrgica seletiva da veia interventricular anterior foi realizada num pequeno número de pacientes também na década de 70, particularmente naqueles indivíduos com indicação cirúrgica, mas com leito distal inacessível para revascularização aorto-coronária, condição esta ideal para a indicação do procedimento, segundo seus proponentes (24,25). Uma experiência muito limitada com este tipo de cirurgia ocorreu na época, coincidindo com avanços importantes nas técnicas cirúrgicas e de preservação miocárdica das cirurgias de revascularização.

## 4.2 OCLUSÃO INTERMITENTE DO SEIO CORONÁRIO

Esta técnica caracteriza-se pela oclusão intermitente do seio coronário tempo-dependente, ou seja, predetermina-se um tempo de oclusão independente da pressão intravenosa coronária (26). Oclusão intermitente do seio coronário por controle pressórico é uma variante da primeira técnica, e que consiste no uso de um aparelho que cicla o tempo de oclusão do seio coronário com base na elevação da pressão dentro do próprio seio (27, 28).

O suposto efeito benéfico desta técnica baseia-se na lavagem de metabólitos da área isquêmica do miocárdio, utilizando frentes de ondas de fluxo retrógrado dosado de acordo com o aumento cíclico das pressões no seio coronário e no sistema venoso coronário (28). Ou seja, o miocárdio agudamente isquêmico, no qual a saída de metabólitos tóxicos das células está dificultada pelo baixo fluxo sanguíneo na região, seria perfundido retrogradamente a pressões controladas, de modo que estes metabólitos pudessem ser lavados da região, com isto retardando o processo inexorável de morte celular isquêmica. Este efeito foi demonstrado em vários modelos experimentais utilizando medidas de gradiente de densidade sanguínea regional no miocárdio, acompanhado de observações e medidas histológicas, tomadas das áreas de isquemia e necrose (29, 30). Algumas poucas observações em seres humanos foram também efetuadas, embora com resultados pouco convincentes (31).

### 4.3 RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA DO MIOCÁRDIO: CONCEITO E MECANISMOS.

O mecanismo básico da retroperfusão apoia-se no efeito benéfico da oferta de sangue arterial através das veias coronárias para uma área agudamente isquêmica do miocárdio (32).

A quantidade de sangue arterial retroperfundido parece estar diretamente relacionada a vários fatores: 1) gradientes pressóricos entre as veias coronárias e a cavidade ventricular, particularmente em diástole, quando a bomba de retroperfusão está na sua fase propulsiva; 2) diferenças pressóricas entre as veias coronárias e a zona de baixa pressão na artéria coronária distal ao seu ponto de obstrução. É importante ressaltar que a retroperfusão parece não ser efetiva quando o fluxo nas artérias epicárdicas é normal, como também a sua eficácia é discutível quando a pressão nas veias coronárias é muito baixa. Taira e colaboradores demonstraram recentemente que, durante a retroperfusão em ratos com isquemia miocárdica, o incremento na pressão venosa coronária é fluxo-dependente (33). Neste estudo, os autores demonstraram uma relação praticamente linear entre o fluxo venoso coronário retrógrado durante a retroperfusão e a pressão venosa coronária.

Em condições de isquemia aguda, é provável que a vasodilatação isquêmica na área afetada, o aumento da complacência dos vasos epicárdicos, bem como a perda de contração da área isquêmica, facilitem a perfusão retrógrada.

Não se sabe, porém, até que ponto o estresse intramiocárdico e a resistência ao fluxo nas artérias coronárias possam reduzir a eficácia da retroperfusão. Snyder e colegas estudaram os componentes da resistência extravascular ao fluxo coronário, e concluíram que a pressão intraventricular é o fator determinante desta resistência, enquanto que o papel da contratilidade miocárdica parece ser secundário na compressão extravascular dos vasos de resistência (13).

Outro possível determinante do fluxo diastólico retrógrado durante a retroperfusão é o gradiente pressórico em diástole dentro da própria parede ventricular. Stein e colegas (14) mediram as pressões intramiocárdicas em diástole em cães, e encontraram gradientes significativos entre as camadas subendocárdica e subepicárdica e a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo. Neste estudo, a pressão intramiocárdica na região subepicárdica foi de 28 mmHg, em média. Já na região subendocárdica, a pressão média foi de 13 mmHg, enquanto que a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo foi de 8 mmHg. Estes gradientes pressóricos em diástole já haviam sido estimados utilizando curvas de fluxo-pressão coronária (15). Observou-se também que estes gradientes são o oposto daqueles que ocorrem durante a sístole ventricular.

Armour e Klassen (16) mediram as pressões central e periférica no sistema venoso coronário em cães, e observaram que a pressão venosa coronária central (próximo ao seio coronário) é menor que a pressão venosa coronária periférica (próximo ao ápice), e que as curvas de pressão venosa e arterial periféricas são similares. Estes achados levaram os autores a concluir que a pressão intramiocárdica tem um papel importante na pressão venosa coronária. Compressão miocárdica devida ao engurgitamento e aumento do volume sanguíneo intramural poderia ocorrer durante a retroperfusão miocárdica. Isto é prevenido por um mecanismo de drenagem adequada durante a sístole ventricular; além disto, sangue em excesso no sistema venoso coronário drena para as cavidades cardíacas através das veias de Thebesius (17,18), uma válvula de escape natural que evita excesso de pressão intravenosa coronária durante a retroperfusão.

Uma condição que pode tornar este mecanismo menos eficaz é o aumento excessivo da pressão diastólica final na cavidade ventricular esquerda. Nestes casos, pode ser necessário o uso concomitante de redutores de pré-carga para melhorar a eficácia da retroperfusão. Uma pressão venosa coronária muito elevada durante a retroperfusão pode aumentar o fluxo através de conexões venocapilares, mas não se sabe até que ponto este

aumento de fluxo pode se traduzir num aumento da nutrição miocárdica. Isto dependeria, em última análise, da utilização do oxigênio do sangue arterial retroperfundido pelos tecidos. Meerbaum e colaboradores (32) notaram uma redução consistente na pressão parcial de oxigênio na artéria coronária num ponto distal à obstrução da mesma em cães tratados com retroperfusão, uma indicação de utilização aumentada de oxigênio pelo miocárdio isquêmico.

É importante reconhecer que o fluxo através das veias de Thebesius, que parece ser muito variável entre os mamíferos, e mesmo no homem, pode ser uma faca de dois gumes em termos da retroperfusão propiciar um aumento do fluxo nutritivo ao miocárdio isquêmico. O fluxo através das veias de Thebesius para as cavidades cardíacas pode ser muito significativo, impossibilitando um maior redirecionamento de sangue para o miocárdio isquêmico. Já um fluxo muito pequeno, através deste sistema, poderia ocasionar edema miocárdico. Maurer e colegas demonstraram, recentemente, que a injeção de agentes de contraste ultrassônico através do seio coronário em cães submetidos a oclusão da artéria coronária opacifica o miocárdio isquêmico; porém, outros autores também evidenciaram "shunts" para as cavidades cardíacas após estas injeções, e questionam se estes "shunts" não poderiam diminuir a eficácia da retroperfusão (34). Um outro estudo, previamente publicado por Scharff e colegas (35), demonstrou que 80% do fluxo venoso coronário drena diretamente nas cavidades cardíacas no coração do cão, quando a pressão no seio coronário estiver acima de 35-40 mmHg. Mais recentemente, Ten Cate(36) e Zwehl(37) publicaram estudos preliminares em seres humanos utilizando também ecocardiografia contrastada do miocárdio, e demonstraram a existência de conexões importantes entre as veias coronárias e as cavidades cardíacas. Outra evidência indireta da existência destas conexões no ser humano prende-se ao fato de que a pressão de oclusão do seio coronário em diástole é muito próxima à pressão diastólica final do ventrículo esquerdo, como demonstrado por Faxon (38).

Os efeitos hemodinâmicos da retroperfusão têm sido investigados em animais de laboratório(31-39), mas os seus efeitos no ser humano ainda são pouco conhecidos. Em estudos experimentais em cães, a retroperfusão diminuiu a resistência vascular periférica e aumentou o débito cardíaco na presença de oclusão aguda da artéria descendente anterior. A pressão arterial sistólica, bem como a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo, e a frequência cardíaca, parecem ser pouco afetados pela retroperfusão, havendo uma leve diminuição nestes parâmetros. Gore e colaboradores estudaram 5 pacientes com angina em repouso tratados com retroperfusão por um período médio de 28 horas, e constataram alterações mínimas nas pressões atrial direita, arterial sistólica, débito cardíaco e frequência cardíaca(40).

Um outro possível efeito benéfico da retroperfusão seria em relação à lavagem de metabólitos do miocárdio isquêmico, conforme sugerido num estudo de Chang e colegas (41). Sabe-se que, em presença de fluxo sanguíneo excessivamente baixo na área isquêmica, metabólitos tendem a acumular rapidamente no local, acelerando o processo de injúria celular e de disfunção miocárdica. Aumento da lavagem de metabólitos do miocárdio isquêmico também tem sido demonstrado com uso de oclusão intermitente controlada do seio coronário, uma intervenção em muitos aspectos parecida com a retroperfusão sincronizada(28).

## 5 DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL DA RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA.

### 5.1 A BOMBA E O CATÉTER DE RETROPERFUSÃO E SUA EVOLUÇÃO.

O equipamento utilizado para retroperfusão sincronizada sofreu modificações significativas nos últimos anos. Dos equipamentos improvisados, utilizados inicialmente na segunda metade da década de 70, até os dias de hoje, realmente houve um progresso significativo na melhoria tanto da bomba quanto dos catéteres de retroperfusão.

Por volta dos anos de 1976 a 1980, o sistema utilizado consistia de uma bomba de impulsão utilizada para contrapulsção e acionada em diástole pelo sinal eletrocardiográfico; esta bomba acionava uma bexiga plástica, a qual era insuflada por gás (hélio). Desta forma, o sangue era propulsionado em diástole através de um circuito externo conectado ao catéter de retroperfusão.

O catéter de retroperfusão era um catéter tamanho 7F (2,3 mm de diâmetro), de paredes finas e pré-moldado manualmente em chama, utilizando um guia metálico rígido em seu interior. Este catéter era equipado com um pequeno balonete na sua porção distal, medindo 0,7 a 0,9 cm de diâmetro quando insuflado. Este balonete era insuflado em diástole pelo próprio fluxo movido pela bomba, através de pequenos orifícios na sua porção distal. Portanto, era um catéter auto-insuflável, pois o balonete era insuflado pela própria pressão do fluxo sanguíneo. Como o catéter era posicionado na parte médio-distal da veia cardíaca maior, em diástole, e com o balonete insuflado, havia obliteração completa da veia, facilitando o fluxo unidirecional retrógrado através das veias coronárias. Em sístole, com a interrupção da propulsão de sangue pela bomba, havia uma queda brusca da pressão dentro do catéter, ocasionando um colapamento do balonete.

Desta forma, havia drenagem normal do sangue venoso coronário na sístole cardíaca, pois o catéter com o balonete colabado não obliterava o fluxo na veia cardíaca maior, e com isto o sangue drenava livremente para o seio coronário e átrio direito.

O próximo avanço em termos de equipamento de retroperfusão ocorreu por volta de 1981, com a busca de uma bomba de retroperfusão com melhores características. Nesta época, e através de um esforço conjunto com a USCI (United States Catheter and Instruments Company), de Billerica, Massachussets, nós começamos a trabalhar com uma bomba acionada por um pistão e um catéter auto-insuflável melhorado, particularmente em termos de segurança, já que hemólise e dano a outros elementos sanguíneos era uma preocupação constante. Este sistema foi utilizado experimentalmente por aproximadamente 3 anos e, embora tivesse oferecido vantagens significativas em relação ao equipamento previamente utilizado, haviam três limitações importantes: 1) o sistema proporcionava fluxo retrógrado suficiente em animais de laboratório, mas insatisfatório para uso clínico; 2) havia um pequeno mas preocupante grau de hemólise com o sistema de pistão utilizado para propulsão do sangue; e 3) o balonete auto-insuflável requer uma certa quantia de sangue para encher o próprio reservatório do balão, com isto diminuindo a quantidade de fluxo efetivamente dirigido às veias coronárias.

Em 1985 foi criada uma indústria em Costa Mesa, Califórnia, com o objetivo específico de desenvolver a bomba e os catéteres de retroperfusão, chamada Retroperfusion Systems, Inc. Um dos primeiros sucessos conseguidos com a dedicação exclusiva de engenheiros, cardiologistas e técnicos no desenvolvimento do novo sistema de retroperfusão foi a construção de uma bomba inteiramente nova para retroperfusão, com uma melhora dramática no fluxo retrógrado (até 150 cc/min) e também nos itens de segurança, com eliminação dos riscos de hemólise e embolia gasosa. Em seguida, um catéter de duplo lúmen foi desenvolvido, sendo um lúmen para retroperfusão e o segundo para monitorização contínua da pressão venosa coronária, condição absolutamente essencial para o uso clínico da retroperfusão, já que pressões

intravenosas altas (pico acima de 60 mmHg ou pressão média na veia coronária maior que 40 mmHg) sabidamente estão associadas a lesão das veias e hemorragia subepicárdica.

Com este novo sistema, tornou-se possível iniciar os primeiros testes em seres humanos em julho de 1987. Em 1989 foi desenvolvido um novo catéter de retroperfusão com 3 lúmens. Este catéter, atualmente usado em testes clínicos, oferecia várias vantagens sobre o precedente: primeiro, o balonete do catéter era agora insuflado via terceiro lúmen, usando uma mistura gasosa com CO<sub>2</sub>; em segundo lugar, evitou-se com isto a perda de fluxo efetivo que ocorria com os sistemas de auto-insuflação. Na mesma época, no final de 1989, conseguiu-se melhorar os itens de segurança de um novo modelo de bomba, capaz de bombear até 250 cc/minuto, além de um dispositivo que permite manipular o tempo de desinsuflação do balonete.

## O SISTEMA ATUAL DE RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA

O sistema atual de retroperfusão consiste nos seguintes componentes: a) a bomba de retroperfusão; b) o catéter de retroperfusão; c) o catéter arterial; e d) o cassete propulsor, posicionado entre o catéter arterial e o catéter venoso de retroperfusão. Os três últimos são os componentes descartáveis do sistema.

## A BOMBA DE RETROPERFUSÃO

Esta é composta de um aparelho que opera com motor pistonado, e um microprocessador contendo os dispositivos eletrônicos necessários para seu funcionamento. A sincronização diastólica é feita através de detecção eletrônica da onda R do eletrocardiograma, por uma entrada de sinal separada, iniciando um bombeamento único para cada onda R. Através de um mecanismo eletropneumático, o balonete do catéter é insuflado com um volume fixo de gás (CO<sub>2</sub>), proveniente de um cilindro pressurizado; este mecanismo também está sincronizado com cada bombeamento. O fluxo de sangue a ser retroperfundido é selecionado previamente através de um

indicador no painel, variando de 10 a 250 cc por minuto, podendo ser modificado durante o procedimento. A frequência cardíaca não afeta o volume de sangue propulsionado, mas obstruções na tubulação, pressão arterial muito baixa, ou fluxo baixo de sangue proveniente do catéter arterial são causas de fluxo de retroperfusão baixo. No painel existe também um detector de baixo volume de sangue arterial. Um cassete descartável é interposto entre a fonte de sangue arterial e o catéter de retroperfusão; este cassete contém o dispositivo propulsor do sangue arterial e é acionado pelo motor da bomba, sendo colocado no próprio console da bomba de retroperfusão.

Algumas salvaguardas são importantes e estão inseridos no controle eletrônico do equipamento, como detecção de uma onda R extra (uma onda T de alta amplitude, por exemplo), caso em que o bombeamento é abortado; uma válvula de proteção também é automaticamente acionada quando a bomba não está em funcionamento, evitando fluxo passivo de sangue da linha arterial (de alta pressão) para o catéter venoso (de retroperfusão). Outros dispositivos de alarme serão acionados em casos de pressão excessiva no seio coronário (pico de 60 ou pressão média acima de 40 mmHg), perda de sinal eletrocardiográfico, mal alinhamento do cassete, frequência cardíaca acima ou abaixo dos limites indicados no painel, e também ocorrerá disparo do alarme em casos de pressão baixa no sistema de insuflação do balonete do catéter de retroperfusão. Um outro dispositivo opcional do equipamento é um fluxômetro, que utiliza tempo de trânsito ultrassônico como princípio de funcionamento. Este fluxômetro possui um indicador de fluxo no próprio painel da bomba de retroperfusão, e serve para calibrar ou verificar se o fluxo pré-selecionado no painel é o fluxo real da bomba.

## OS COMPONENTES ESTÉREIS DESCARTÁVEIS.

Estes consistem no cassete propulsor de sangue, o catéter de retroperfusão, e o catéter arterial. O cassete é composto de duas câmaras, sendo que a primeira e menor delas serve como câmara receptora do sangue,

a qual contém uma saída de silicone, para eventual aspiração de ar do sistema (bolhas), utilizando uma simples seringa com agulha número 25. Quando o cassete é fixado no console da bomba, esta câmara menor estará alinhada com um detector infra-vermelho, que irá disparar o alarme caso a quantidade de sangue proveniente da linha arterial esteja insuficiente. A segunda câmara, e maior delas, é a câmara propulsora, sendo que o sangue é bombeado através de um pistão ativado eletronicamente no console. O cassete contém duas válvulas esféricas de segurança, uma localizada entre as duas câmaras e a outra entre o tubo de saída da câmara propulsora e o catéter de retroperfusão.

O catéter de retroperfusão é um catéter radiopaco, de três lúmens, tamanho 8,5 F, com um balonete distal a 10 mm da sua ponta. Com pressão de insuflação total, o diâmetro do balonete é de 10 mm e tem uma forma oval. Os três lúmens são identificados, sendo que os lúmens de infusão e de inflação do balonete têm um conector macho, enquanto que o lúmen de medida de pressão tem um conector fêmea. A ponta do catéter é feita com material menos resistente, e portanto menos traumático, e uma faixa radiopaca está posicionada proximalmente ao balonete, permitindo visualização adequada sob fluoroscopia.

O catéter arterial é um catéter de lúmen único, podendo ser N0. 7F ou 8F, contendo orifícios laterais e distalmente para entrada passiva do sangue arterial, e um conector fêmea proximal. A escolha do tamanho do catéter depende do tamanho da artéria femoral do paciente, mas é claro que o catéter 8F é preferível, por permitir um fluxo de sangue maior. Alguns detalhes operativos do sistema são úteis de serem mencionados. Após conectar o cassete aos tubos de entrada (linha arterial) e saída (linha venosa), é importante lavar os lúmens de infusão e pressão do catéter de retroperfusão, utilizando solução salina. O lúmen do balonete deve ser testado com seringa seca e com ar, simplesmente para verificar se o balonete não está roto. Um outro detalhe importante antes de iniciar a retroperfusão é a verificação do posicionamento da ponta do catéter na veia cardíaca maior, além da obtenção da pressão venosa coronária inicial. Se a pressão média for maior que

40mmHg, o catéter deve ser retirado gradualmente para uma posição mais proximal, até que a pressão seja menor. Se a pressão permanecer elevada, provavelmente a retroperfusão não deverá ser usada neste paciente. O cassete deve sempre ser previamente cheio com 60 a 70cc de solução salina heparinizada (500 unidades de heparina em 500 ml de soro), prestando atenção em particular para a presença de ar (bolhas) no sistema.

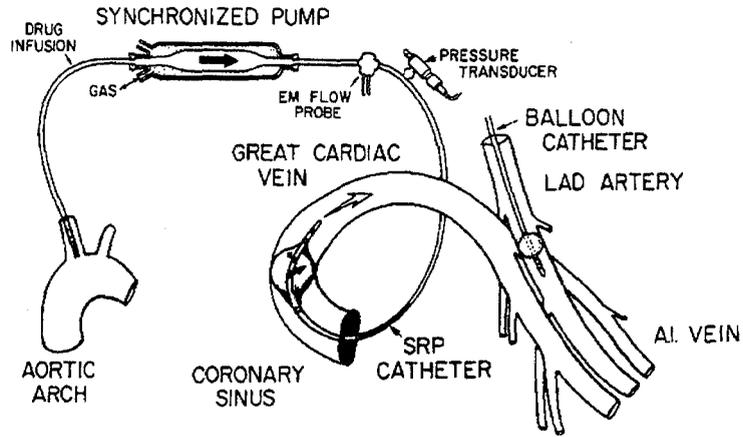
## 5.2 ESTUDOS INICIAIS DA RETROPERFUSÃO DIASTÓLICA SINCRONIZADA

### 5.2.1 RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA EM CÃES COM TÓRAX ABERTO

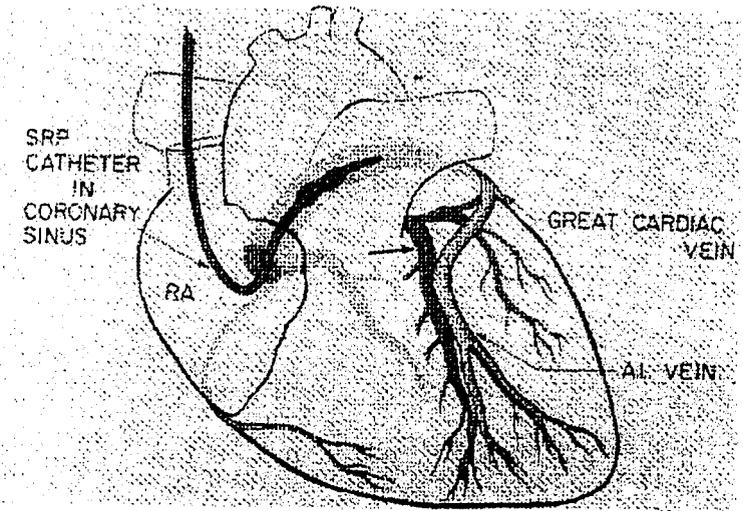
Com o objetivo de avaliar o efeito da retroperfusão diastólica sincronizada sobre a função global e regional do ventrículo esquerdo, e também sobre parâmetros hemodinâmicos e metabólicos, Meerbaum e colaboradores (32) estudaram a retroperfusão em cães submetidos a oclusão aguda da artéria coronária descendente anterior. Estes cães foram sedados com morfina e anestesiados com pentobarbital sódico. O tórax foi então aberto e a artéria descendente anterior dissecada distalmente ao seu primeiro ramo diagonal. Os autores mediram as pressões na aorta e ventrículo esquerdo, e a força miocárdica regional foi medida através de implantação de transdutores miniatura piezoresistentes, desenvolvidos com o Laboratório de Propulsão de Jatos (Jet Propulsion Laboratory) do Instituto de Tecnologia da Califórnia (California Institute of Technology, Pasadena, California). Estes transdutores são inseridos num pino especialmente desenhado para este fim, com peso menor que 0,10g. Colocando 2 pinos em aposição no miocárdio prestes a tornar-se isquêmico, e medindo-se a variação da distância entre os mesmos da diástole para a sístole, pode-se aferir a força de contração regional do miocárdio. Importante ressaltar que estes pequenos eletrodos praticamente não causam dano ao miocárdio. Ao lado destes, foi colocado um eletrodo para o sinal eletrocardiográfico, bem como um segundo eletrodo distante da área a tornar-se isquêmica.

O sistema de retroperfusão utilizado neste estudo foi o sistema básico descrito anteriormente. Em resumo, um catéter de retroperfusão tamanho 7F, com balonete auto-insuflável, foi colocado através do seio coronário e posicionado na veia cardíaca maior. A bomba de retroperfusão utilizada foi uma bomba de contrapulsão convencional (Kantrovicz, modelo 1010), acoplada a uma bexiga propulsora pulsátil ativada por gás hélio. O fluxo do

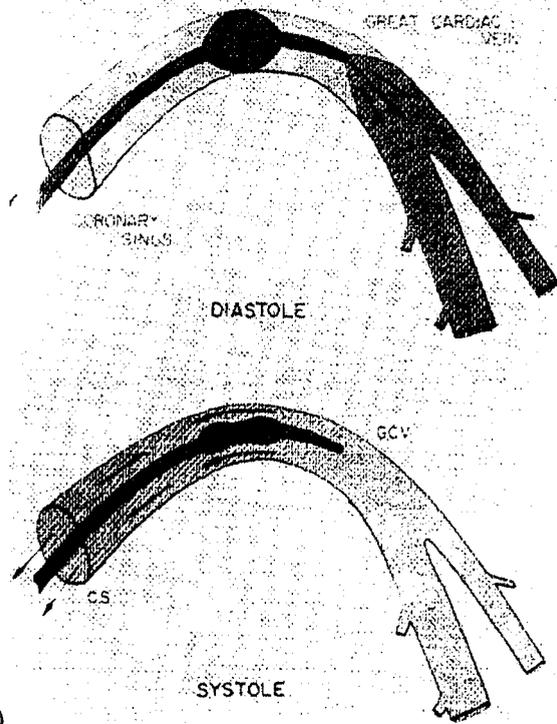
sistema foi medido utilizando um fluxômetro eletromagnético (Oretronic, Inc, Concord, Califórnia). A Figura 2 resume, esquematicamente, a operação do sistema utilizado pelos autores. O sangue arterial é retirado por um catéter introduzido na artéria braquial e bombeado retrogradamente em diástole, utilizando o eletrocardiograma (onda R) para sincronização. O balonete na ponta do catéter de retroperfusão é insuflado através de orifícios no catéter, causando auto-inflação (pela própria pressão sanguínea), e permitindo oclusão diastólica da veia cardíaca maior, enquanto sangue arterial é propulsionado em direção a área isquêmica. Em sístole, o balonete colapsa, e a drenagem venosa coronária ocorre livremente, evitando acúmulo líquido e edema miocárdico. Neste protocolo, o fluxo médio foi fixado em 50cc por minuto.



A)



B)



C)

Figura 2. Representação esquemática básica da retroperfusão diastólica sincronizada (SRP).

A) sangue arterial é desviado para a veia interventricular anterior (AI Vein) e propulsionado pela bomba de retroperfusão (synchronized pump). O catéter de retroperfusão (SRP catheter) é introduzido pelo seio coronário (coronary sinus) e posicionado distalmente na veia cardíaca maior (great cardiac vein). A pressão na veia coronária é averiguada com um transdutor (pressure transducer), e o fluxo da bomba de retroperfusão verificado por fluxômetro eletromagnético (Em Flow Probe) na saída da bomba. A artéria coronária descendente anterior (LAD artery) é ocluída através de um catéter balão (ballon catheter), conforme mostrado na Figura.

B) Posição do catéter de retroperfusão (SRP catheter) em relação ao seio coronário (coronary sinus), veia cardíaca maior (great cardiac vein) e veia interventricular anterior (AI Vein); RA = átrio direito.

C) Operação do catéter de SRP. Em diástole o balão é insuflado e o sangue arterial é propulsionado em direção à área isquêmica; em sístole a retroperfusão cessa e o balonete colapsa, permitindo drenagem do sangue coronário em volta do catéter.

Além das medidas eletrocardiográficas, de função contrátil regional da zona isquêmica do ventrículo esquerdo, e de medidas hemodinâmicas, alterações metabólicas durante os experimentos foram avaliadas colhendo-se amostras sanguíneas arteriais (da aorta) e venosas (da veia cardíaca maior), permitindo a análise da extração de lactato e balanço de potássio da área isquêmica.

Dois grupos de cães foram estudados, igualmente manipulados, inclusive com a introdução do catéter de retroperfusão no grupo controle. Este grupo consistiu de 12 cães, onde a artéria descendente anterior foi ligada totalmente por um período de 75 minutos e sem tratamento. No grupo tratado (16 cães), a artéria descendente anterior foi ocluída pelo mesmo período de 75 minutos, mas os cães foram tratados com retroperfusão a partir de 30 minutos de oclusão. Medidas pressóricas, eletrocardiográficas, metabólicas, e de fluxo retrógrado (no grupo tratado), foram feitas aos 5, 30 e 75 minutos pós-occlusão arterial coronária, como também uma medida basal pré-occlusão. Na série de cães não tratados (controle), a oclusão coronária diminuiu drasticamente a força miocárdica regional e elevou muito o segmento ST do eletrocardiograma, anormalidades estas que permaneceram neste grupo até o final das experiências, o mesmo ocorrendo com as alterações metabólicas, caracterizadas por produção excessiva de lactato e balanço negativo de potássio. Já no grupo tratado com retroperfusão, observou-se uma melhora significativa da contração regional na área isquêmica, embora não retornando aos níveis pré-occlusão coronária. Simultaneamente, observou-se uma redução importante na elevação do segmento ST do eletrocardiograma, evidenciando

uma redução nos níveis de isquemia miocárdica. Em termos de alterações hemodinâmicas, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Já a pressão intracoronária (distalmente a oclusão da artéria descendente anterior) foi maior no grupo tratado com retroperfusão. Um outro dado importante observado no grupo tratado foi a queda da pressão parcial de oxigênio no sangue coletado do catéter posicionado na artéria descendente anterior, distal ao ponto de oclusão arterial, enquanto que no grupo controle não houve esta alteração. A Figura 3 mostra alterações observadas num dos cães tratados com retroperfusão, demonstrando benefício claro do tratamento.

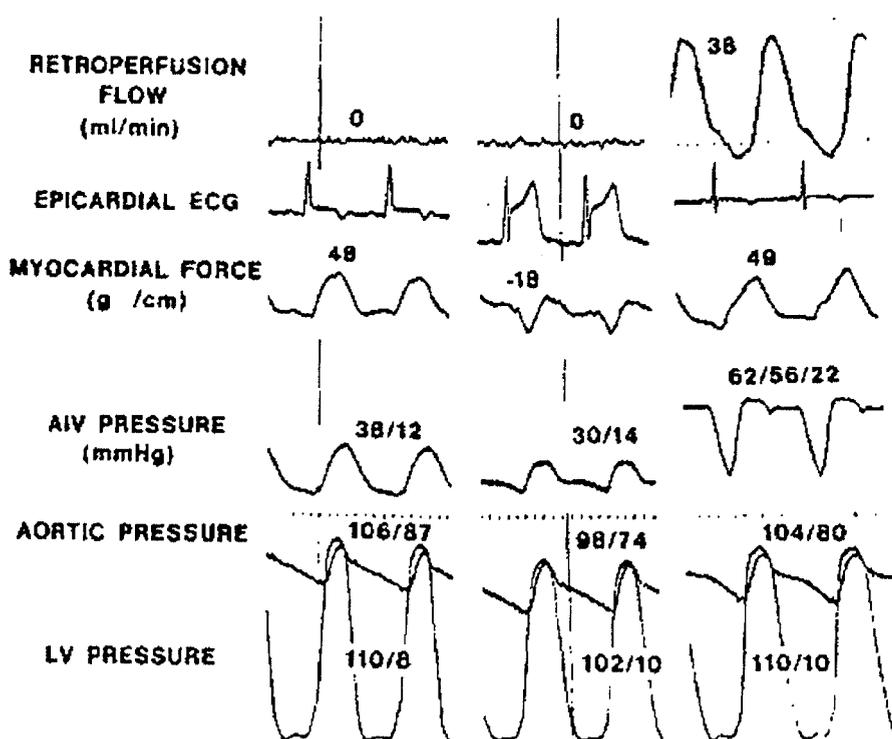


Figura 3. Alterações pressóricas na veia interventricular anterior (AIV pressure), no eletrocardiograma epicárdico (Epicardial ECG), contração miocárdica (myocardial force), fluxo de retroperfusão (retroperfusion flow), pressão aórtica (aortic pressure) e ventricular esquerda (LV pressure) num cão tratado com retroperfusão após oclusão da artéria coronária descendente anterior (coronary occlusion). Note aumento da pressão na veia interventricular para 56 mmHg com um fluxo de retroperfusão de 38 ml/min.

Estas experiências em cães com tórax aberto indicaram uma melhora na função contrátil na região isquêmica do miocárdio, acompanhada de redução da elevação do segmento ST no eletrocardiograma. Os autores concluíram que esta melhora ocorreu por um aumento da oferta de sangue arterial para a região isquêmica proporcionado pela retroperfusão, ao mesmo

tempo em que este sistema de retroperfusão diastólica sincronizada evita a formação de edema miocárdico através da drenagem normal do fluxo venoso coronário em sístole, documentado pelos níveis de pressão intravenosa coronária demonstrado nas experiências.

Neste trabalho, a retroperfusão foi iniciada aos 30 minutos de oclusão coronária, um tempo de oclusão em que a maioria das células isquêmicas ainda apresenta possibilidade de recuperação completa. Segundo observações anteriores, lesão celular irreversível ocorre após 30 minutos de oclusão arterial coronária em cães (42). Portanto, as evidências de que a retroperfusão pode melhorar o fluxo nutricional para o miocárdio isquêmico foram demonstrados nestes experimentos, embora de uma forma indireta. A redução consistente da pressão parcial de oxigênio distal ao ponto de oclusão pode ser interpretada como evidência de utilização de oxigênio pelo músculo isquêmico retroperfundido com sangue arterial, já que isto não foi observado nos cães controle. Entretanto, não se pode afastar definitivamente que esta redução tenha ocorrido simplesmente por deslocamento do sangue venoso drenado normalmente via seio coronário. Uma limitação inerente a todas as experiências deste tipo em cães com tórax aberto refere-se as alterações hemodinâmicas e do sistema nervoso autônomo, encontrados neste tipo de preparação, também agravadas pela anestesia com agentes miocárdio-depressores.

Em resumo, este estudo preliminar, utilizando equipamentos de retroperfusão pouco rudimentares em cães anestesiados e com tórax aberto, demonstrou um provável efeito benéfico da retroperfusão sincronizada do miocárdio em situação de isquemia aguda provocada pela obstrução da artéria coronária descendente anterior. Estas são observações preliminares, mas que demonstram um potencial para o uso desta técnica como suporte em termos de melhorar a função miocárdica da área isquêmica, e, possivelmente, retardar o processo de necrose que irremediavelmente ocorre após oclusão arterial coronária aguda.

## 5.2.2 RETROPERFUSÃO DIASTÓLICA SINCRONIZADA EM CÃES COM TÓRAX FECHADO

Este estudo preliminar conduzido por Farcot e colegas (39), visa investigar os efeitos da retroperfusão sincronizada do miocárdio em cães com tórax fechado, após oclusão aguda da artéria coronária descendente anterior, portanto utilizando um modelo experimental mais fisiológico, sendo que o interesse primário dos autores foi avaliar o efeito da retroperfusão sobre o tamanho do infarto, a função ventricular esquerda, e sobre os parâmetros hemodinâmicos. A bomba e o catéter de retroperfusão utilizados neste estudo foram idênticos aos mencionados no estudo de Meerbaun (32). Foi tomado um cuidado adicional no sentido de realizar uma venografia coronária após colocação adequada do catéter de retroperfusão, e também foi dispensada atenção especial para o posicionamento do balonete do catéter de retroperfusão o mais próximo possível da veia interventricular anterior, sem no entanto causar obstrução do fluxo de drenagem venosa coronária.

As experiências foram conduzidas em cães sedados com morfina e anestesiados com pentobarbital sódico. As pressões na aorta e ventrículo esquerdo foram monitoradas, bem como o eletrocardiograma intracoronário, obtido através da introdução um guia metálico de teflon (diâmetro de 0,0127 cm) com um eletrodo na ponta; este eletrodo foi posicionado aproximadamente 1cm distalmente ao balonete de oclusão da artéria coronária. Ventriculografia esquerda contrastada foi utilizada para medir os volumes ventriculares e fração de ejeção global, e a avaliação do tamanho do infarto foi feita ao final das experiências, utilizando o corante NBT(tetrazolium azul nitroso).

As experiências foram feitas em 26 cães, 13 tratados com retroperfusão, e 13 cães serviram como controle. A oclusão coronária foi mantida em todos os animais por um período de 4 horas, e no grupo tratado a retroperfusão foi iniciada 1 hora após oclusão coronária.

Os efeitos da retroperfusão sobre os parâmetros hemodinâmicos, comparado ao grupo controle, demonstraram uma redução pequena mas estatisticamente significativa da frequência cardíaca, da pressão arterial sistólica e da resistência vascular periférica, além de uma redução na pressão diastólica final do ventrículo esquerdo. As diferenças em termos de débito cardíaco, volume sistólico e  $dP/dt$  não atingiram diferença estatística.

A fração de ejeção global medida através de ventriculografia diminuiu consideravelmente nos dois grupos após oclusão coronária, permanecendo baixa até o final das 4 horas de experiência no grupo controle, ao passo que os cães tratados com retroperfusão demonstraram uma melhora na fração de ejeção, basicamente as custas de uma melhor contração na região isquêmica, como demonstrado na Figura 4.

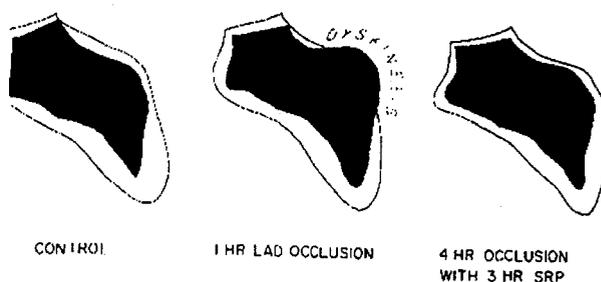


Figura 4. Avaliação da função ventricular esquerda através de ventriculografia contrastada num cão com tórax fechado tratado com retroperfusão sincronizada (SRP). Observa-se os contornos do ventrículo esquerdo em diástole e em sístole (áreas sombreadas) antes da oclusão (control), uma hora após oclusão da artéria descendente anterior (LAD occlusion) e antes de iniciar SRP, e quatro horas após oclusão com três horas de tratamento com SRP (foto da direita). Observa-se melhora importante da função contrátil na parede anterior do ventrículo esquerdo, passando de discinesia (dyskinesis) para hipocinesia, e também melhora na fração de ejeção global (de 46% para 51%).

A avaliação do tamanho do infarto evidenciou uma redução estatisticamente significativa no grupo tratado ( $3,3 \pm 1,8\%$  da massa ventricular esquerda) comparado ao grupo controle ( $16,3 \pm 4,8\%$ ). A inspeção macroscópica do sistema venoso coronário nos cães tratados com retroperfusão não demonstrou lesão significativa causada pelo tratamento, corroborada por análise histológica e por microscopia óptica. Também não foi observado edema intersticial nesses cães, tanto no miocárdio isquêmico quanto nas zonas de transição.

Os resultados desse estudo experimental, utilizando retroperfusão sincronizada em cães com tórax fechado submetidos a oclusão aguda da artéria descendente anterior, corroboram os achados anteriores em cães com tórax aberto. Além disto, o estudo acrescenta duas conclusões adicionais importantes, quais sejam, a redução do tamanho da área de necrose nos cães tratados comparados aos cães controle, e a possibilidade de utilizar o método em animais com tórax fechado, sem causar dano ao sistema venoso coronário ou miocárdio subjacente. O estudo mostra também a eficácia do método operacional do catéter de retroperfusão, com seu sistema de insuflação em diástole, criando um compartimento no sistema venoso, e facilitando o fluxo retrógrado em direção a área isquêmica, ao mesmo tempo em que facilita a drenagem venosa coronária com a desinsuflação do balonete em sístole. Os achados macro e microscópicos indicam que o método é eficiente para prevenir os problemas de edema e hemorragia miocárdicos, bem como pressões elevadas nas veias coronárias, problemas estes encontrados com a retroperfusão cirúrgica (19, 21).

Cateterização do seio coronário foi feita neste estudo com controle fluoroscópico, sendo que o tempo médio para inserção e posicionamento do catéter foi de 10 minutos, o que coincide com o tempo aproximado para cateterização do seio coronário em seres humanos. Mais importante, isto foi conseguido sem causar dano as veias coronárias. Os autores concluíram que o fato de ter sido documentada uma redução acentuada do tamanho do infarto nos cães tratados com retroperfusão, além da melhora na função contrátil do ventrículo esquerdo, abre uma perspectiva importante para a utilização clínica deste método.

### 5.3 RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA HIPOTÉRMICA

#### 5.3.1 DISTRIBUIÇÃO DA TEMPERATURA MIOCÁRDICA REGIONAL DURANTE A RETROPERFUSÃO HIPOTÉRMICA (PROTOCOLO 1).

##### OBJETIVOS:

Estudar a velocidade e grau de resfriamento miocárdico através do uso de retroperfusão diastólica sincronizada de sangue arterial infundido a baixas temperaturas, e avaliar o efeito da hipotermia miocárdica sobre a extensão da necrose e parâmetros hemodinâmicos em cães anestesiados submetidos a oclusão da artéria descendente anterior.

##### MÉTODOS:

Vinte e seis cães machos ou fêmeas com peso de 21 a 26 kg foram usados para este estudo. Os animais foram premedicados com sulfato de morfina intramuscular (2mg/kg/peso) e anestesiados 30 minutos mais tarde com tiopental sódico (25 mg/kg/de peso, intravenoso). Os cães foram então colocados sobre um colchão de aquecimento para evitar hipotermia corporal devido a anestesia. Após intubação traqueal, a respiração foi mantida com um ventilador tipo Foregeer, modelo 910, e a anestesia mantida com uma mistura de enflurane (2 a 5%) e oxigênio. O volume respiratório (Tidal) foi calculado por peso corporal e a frequência respiratória regulada para manter os níveis de pressão parcial de oxigênio e dióxido de carbono dentro de valores fisiológicos, aferidos a intervalos regulares de tempo durante as experiências. Heparina foi injetada antes da instrumentação na dose de 8000 U, via endovenosa. Um catéter número 5F, com micro-transdutor na sua ponta (Millar Instruments), foi introduzido no ventrículo esquerdo através da artéria femoral direita, a fim de obter medidas da pressão intraventricular esquerda e a sua derivativa (dP/dt). Um catéter de Swan-Ganz número 7F foi colocado na artéria pulmonar através da veia femoral esquerda, para monitorizar a temperatura sanguínea na artéria pulmonar. O catéter de retroperfusão (número 7,5F, Retroperfusion Systems, Costa Mesa, California) foi colocado

no seio coronário pela veia jugular interna esquerda, e posicionado na veia cardíaca maior. Um catéter tamanho 7F foi colocado na artéria carótida direita para obtenção do sangue arterial a ser retroperfundido. Para manutenção de infusão de líquidos (soro fisiológico), um catéter de polietileno foi colocado na veia femoral direita.

Toracotomia esquerda foi feita através do 5º espaço intercostal, o pericárdio foi incisado, e cinco sensores de temperatura (Laboratórios Webster, Altadena, California) foram colocados na camada média do miocárdio para verificação da temperatura miocárdica nos seguintes locais: 1º) na parede anterior do ventrículo esquerdo, próximo a porção inicial da artéria descendente anterior e acima do ponto previsto para a oclusão desta artéria; 2º) parede anterior do ventrículo esquerdo, distal ao ponto previsto para a oclusão arterial; 3º) parede póstero-lateral do ventrículo esquerdo, próximo ao ramo marginal da artéria circunflexa; 4º) parede posterior do ventrículo esquerdo, e 5º) parede livre do ventrículo direito, na sua porção média (Figura 5). O mesmo tipo de sensor foi colocado no reto dos cães e na parte extracorpórea do circuito da bomba de retroperfusão (próximo a conexão do catéter de retroperfusão), a fim de medir a temperatura do sangue arterial a ser retroperfundido. As temperaturas destes locais foram monitorizadas com um termômetro digital (NTM - 100 B, Webster Laboratories, Altadena, California). Uma dose adicional de heparina foi infundida após a instrumentação (5.000 U endovenosa), e suplementada com infusão contínua de 1.000 U por hora. Um catéter Fogarty número 3F (American Edwards Laboratories, Santa Ana, California) foi então introduzido na artéria descendente anterior sob controle fluoroscópico, utilizando um catéter guia modificado tipo Judkins número 8F, para coronária esquerda. O balonete oclisor do catéter Fogarty foi posicionado imediatamente distal ao primeiro ramo diagonal da artéria descendente anterior, para subsequente oclusão da mesma. O eletrocardiograma, as pressões sistólica e diastólica final do ventrículo esquerdo, e as pressões da veia coronária foram monitorizadas continuamente utilizando um polígrafo Electronics for Medicine V-12 (Honeywell Inc, Denver, Colorado).

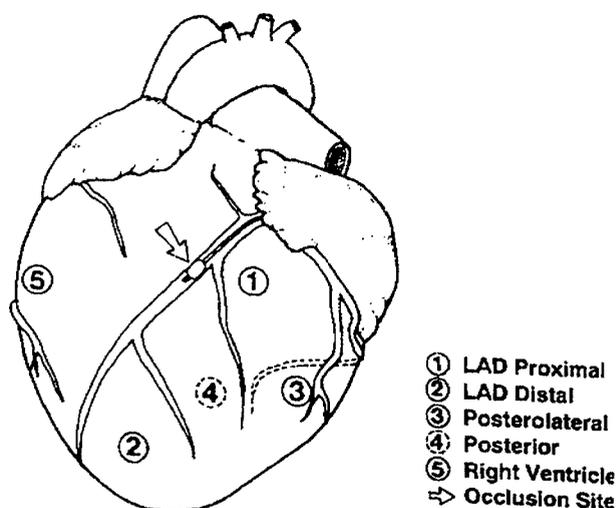


Figura 5. Apresentação esquemática dos locais de medidas da temperatura miocárdica regional. LAD = artéria descendente anterior; Right Ventricle = ventrículo direito; occlusion site = ponto de oclusão arterial coronária.

**Retroperfusão sincronizada.** A retroperfusão foi implantada usando o sistema sincronizado bomba-catéter via sinal eletrocardiográfico (Retroperfusion Systems, Costa Mesa, California), conforme descrito anteriormente. Para infundir sangue a baixas temperaturas, o sistema extracorpóreo foi modificado utilizando uma alça de tubo de cobre com diâmetro interno de 3,3 mm imersa em água gelada. Com isto, a temperatura verificada no sensor colocado no circuito externo foi mantida em aproximadamente 15 graus centígrados.

**Protocolo experimental.** Após registro em papel das medidas hemodinâmicas (pressões cavitárias) e eletrocardiograma, bem como da temperatura das várias regiões acima mencionadas, a artéria coronária foi ocluída inflando o balonete do catéter de Fogarty. A fim de evitar inclusão de animais com muito fluxo colateral para a área isquêmica e com pequena área de risco após oclusão arterial, aos trinta minutos de oclusão foi feita inspeção cuidadosa da área isquêmica procurando por áreas extensas de discinesia. Em caso de dúvida foi feita avaliação da extensão da área discinética utilizando ecocardiograma bidimensional, conforme método anteriormente descrito (43). Após 30 minutos de oclusão coronária, os cães foram randomizados para 3 grupos distintos: 1º) grupo controle (sem tratamento); 2º) grupo submetido a retroperfusão normotérmica; 3º) grupo submetido a retroperfusão hipotérmica. Em ambos grupos tratados, a retroperfusão foi instituída aos 30

minutos de oclusão, estendendo-se até 210 minutos pós-oclusão arterial coronária. O fluxo de sangue retroperfundido foi ajustado a fim de manter a pressão venosa coronária (em diástole) entre 40 e 55 mmHg (pressão de pico). Solução salina isotônica aquecida foi infundida por via intravenosa a um fluxo de 250 ml/hora durante toda a experiência. Medidas seqüenciais dos parâmetros hemodinâmicos e das temperaturas regionais foram obtidas também aos 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150 e aos 180 minutos de oclusão coronária. Após o término dos experimentos, e ainda sob anestesia, os cães foram sacrificados com uma superdose de cloreto de potássio (4m Eq/Kg).

**Anatomia patológica.** A fim de determinar a área de risco do miocárdio (área isquêmica), imediatamente antes de sacrificar os animais, foi feita uma injeção de azul monastral (30 ml) no átrio esquerdo. Este corante "perfunde" as áreas com fluxo sanguíneo coronário tornando as mesmas azuladas e facilmente identificáveis a inspeção macroscópica, enquanto que as áreas não perfundidas pelo corante seriam as áreas isquêmicas, ou "áreas de risco". Logo após a morte dos animais, o coração foi rapidamente removido e fatiado transversalmente (perpendicular ao seu eixo longitudinal), do ápice para a base, em secções de 8 a 10 mm de espessura. Cada fatia de miocárdio ventricular esquerdo foi então desenhada utilizando transparências plásticas superpostas, e posteriormente as áreas de risco e as áreas não-isquêmicas foram medidas utilizando um planímetro. Após o traçado destas áreas nas transparências, as fatias do miocárdio foram rinsadas em solução salina isotônica e rapidamente incubadas em cloreto de trifetil tetrazólio para avaliar a extensão da necrose, conforme técnica anteriormente descrita e publicada (44).

**Análise estatística.** Para comparar os três grupos de cães antes de iniciar a retroperfusão, foi utilizado Análise de Variação (Anova), nos períodos pré-oclusão e aos 15 minutos pós-oclusão coronária, analisando todos os parâmetros hemodinâmicos e os locais de temperatura acima descritos. Caso ocorresse diferença estatisticamente significativa, foi então utilizado teste Student T, usando correção tipo Benferroni, com valores discriminatórios nos

dois braços. Este método também foi utilizado para comparação do tamanho do infarto nos diferentes grupos. Após tratamento com retroperfusão, as temperaturas foram analisadas usando o teste discriminatório de um braço. Um valor de probabilidade (p) menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. Todos os resultados são apresentados em valores médios e erro standard (M+SE).

#### RESULTADOS:

Dos 26 cães incluídos inicialmente no estudo, 4 foram excluídos da análise final porque desenvolveram fibrilação ventricular nos primeiros minutos após oclusão arterial coronária (2 cães do grupo controle e 1 cão em cada um dos outros 2 grupos). Três outros cães também foram excluídos (1 em cada grupo) por apresentarem áreas isquêmicas muito pequenas após verificação da área de risco com azul monastral. A análise final, portanto, incluiu 19 cães, dos quais 5 foram do grupo controle, e 7 de cada um dos 2 grupos tratados.

**Variáveis hemodinâmicas** (Tabela 1). Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os três grupos em quaisquer das medidas hemodinâmicas nos períodos pré-oclusão ou aos 15 minutos após oclusão coronária. Nos primeiros minutos após retroperfusão, também não foram encontradas diferenças entre os 3 grupos; entretanto, e conforme esperado, os cães tratados com retroperfusão hipotérmica apresentaram uma queda significativa na frequência cardíaca, na pressão sistólica ventricular esquerda e na  $dp/dt$  negativa, após a primeira metade das experiências. O fluxo de retroperfusão utilizado a fim de manter a pressão de pico venosa coronária entre 40 e 55 mmHg variou de 20 a 220ml/min. Não houve diferença significativa em termos de pressão venosa coronária entre os grupos tratados.

**Tabela 1. Variáveis hemodinâmicas nos três grupos estudados**

	Pre Ocl	15 min Ocl	35 min Ocl 5 min SRP	45 min Ocl 15 min SRP	60 min Ocl 30 min SRP	75 min Ocl 45 min SRP	90 min Ocl 60 min SRP	120 min Ocl 90 min SRP	150 min Ocl 120 min SRP	180 min Ocl 150 min SRP	210 min Ocl 180 min SRP
FC (bat/min)											
CONT	120,6±6,4	112,0±4,6	110,0±4,3	108,2±4,4	110,0±5,3	107,8±5,4	108,0±5,8	107,4±6,4	112,6±9,6	109,2±8,0	108,0±7,6
SRP	112,8±4,9	111,5±5,5	105,7±7,5	107,3±8,4	108,1±7,6	107,6±7,7	111,1±8,8	109,3±6,6	111,9±7,0	107,3±4,7	107,4±5,1
HSRP	107,5±6,8	113,2±11,1	99,4±7,1	96,5±7,2	96,0±7,7	94,7±8,0	103,6±6,6	99,0±6,2	92,1±8,2	84,8±8,9†	85,8±7,7†
PS-VE (mmHg)											
CONT	92,6±6,3	92,0±5,0	89,0±2,6	88,0±1,7	85,2±2,6	84,0±2,3	82,8±4,2	88,8±4,5	92,4±9,1	89,6±6,3	81,4±1,2
SRP	99,9±6,4	88,6±4,7	84,6±5,4	83,4±3,2	89,4±5,2	81,0±3,1	84,0±2,3	81,1±2,5	78,7±2,4	78,4±1,5	80,0±1,3
HSRP	93,7±4,0	86,9±4,2	82,3±4,8	81,7±3,9	75,1±4,0	75,1±3,8	76,6±3,6	71,0±2,6*	72,9±2,4	68,7±3,9†	66,6±4,7*†
Pd2-VE (mmHg)											
CONT	6,40±0,75	9,20±0,97	9,00±1,30	8,00±0,45	7,60±0,51	7,20±0,37	6,60±0,25	6,60±0,51	5,80±0,73	5,60±0,51	6,20±0,73
SRP	6,86±1,20	7,70±1,25	8,14±1,83	8,71±2,13	8,14±1,55	7,86±1,72	7,71±1,29	7,57±1,46	7,29±1,29	7,00±1,36	7,43±1,34
HSRP	4,43±0,84	6,29±1,15	6,00±1,34	6,00±1,53	6,14±1,10	6,43±0,72	6,43±0,81	6,86±1,03	7,29±1,23	8,14±1,22	8,43±1,51
+ dP/dt (mmHg/s)											
CONT	1050±59	1050±52	990±62	985±19	1009±16	980±12	990±34	1040±24	1126±119	1055±69	937±43
SRP	1447±122	1088±83	1050±109	1050±84	1123±77	1029±52	1093±80	1079±71	993±65	1014±75	1029±60
HSRP	1429±83	1300±114	1130±69	1130±69	1110±64	1007±69	1071±82	964±52	985±55	907±74	900±85
-dP/dt (mmHg/s)											
CONT	1120±89	1105±45	1030±41	1030±22	1001±39	1006±28	985±67	1045±71	1125±162	1050±87	910±30
SRP	1385±80	1110±128	1043±121	971±81	1064±56	929±47	993±74	943±43	857±30	893±77	871±47
HSRP	1436±107	1286±120	1043±86	979±89	936±75	883±86	874±64	769±88†	750±67	657±78‡	621±81*†
PPSC (mmHg)											
SRP	21,4±7,1	11,1±2,4	48,1±3,7	48,6±3,8	42,9±6,0	46,1±7,1	45,3±5,3	45,0±4,6	45,3±4,2	43,9±4,5	45,6±4,4
HSRP	15,4±4,5	10,1±2,9	50,9±5,7	52,0±3,8	49,6±3,3	46,9±4,5	51,0±2,3	47,3±2,5	52,4±3,4	47,6±1,3	45,3±3,6
PMSC (mmHg)											
SRP	10,9±3,2	5,7±1,3	21,7±1,7	22,6±2,8	19,9±3,4	19,0±2,3	20,0±2,4	18,7±1,9	18,1±2,7	18,1±2,0	19,1±2,5
HSRP	7,7±2,3	6,1±2,1	27,4±3,7	28,6±2,3	28,0±2,3	26,3±2,5	29,0±2,6*	24,9±1,9	27,6±2,4	26,6±2,4*	24,1±2,9

\* p < 0,05 vs, retroperfusão normotérmica (SRP)

† p < 0,05 vs controles (CONT)

‡ p < 0,01 vs CONT

FC = frequência cardíaca

PS-VE = pressão sistólica do ventrículo esquerdo

Pd2-VE = pressão diastólica final do ventrículo esquerdo

PPSC = pressão de pico do seio coronário

PMSC = pressão média no seio coronário

HSRP = reperfusão sincronizada hipotérmica

Ocl = Oclusão coronária

+dP/dt e -dP/dt = velocidade máxima de elevação e declínio da pressão ventricular esquerda, respectivamente

**Temperatura miocárdica regional** (Tabela 2). No grupo controle, as temperaturas na artéria pulmonar, nas regiões miocárdicas, bem como no reto, diminuíram lenta e gradualmente durante os experimentos, encaixando-se numa curva logarítmica natural. No grupo tratado com retroperfusão normotérmica, a temperatura da parede ventricular anterior proximal diminuiu significativamente durante a retroperfusão (2 graus centígrados), enquanto que nos demais locais não houve diferença comparado ao grupo controle (Figura 6). No grupo tratado com retroperfusão hipotérmica, as temperaturas na parede ventricular anterior proximal e distal diminuíram rápida e progressivamente, atingindo diferenças estatisticamente significativas já aos 15 minutos pós-oclusão arterial coronária; nas demais regiões, a temperatura miocárdica diminuiu mais lentamente ao longo dos experimentos, não ocorrendo diferenças significativas nestas regiões entre os 3 grupos. As temperaturas na região anterior distal do ventrículo esquerdo foram sempre menores que na parede posterior, entre 5 e 60 minutos após retroperfusão hipotérmica, sendo que a maior diferença regional (3,6 graus C) ocorreu aos 15 minutos pós-retroperfusão hipotérmica (Figura 6).

**Tabela 2. Temperaturas miocárdicas, corporal e arterial pulmonar nos três grupos de tratamento**

		35 min Ocl	45 min Ocl	60 min Ocl	75 min Ocl	90 min Ocl	120 min Ocl	150 min Ocl	180 min Ocl	210 min Ocl	
	Pre Ocl	15 min Ocl	5 min SRP	15 min SRP	30 min SRP	45 min SRP	60 min SRP	90 min SRP	120 min SRP	150 min SRP	180 min SRP
<b>Retal</b>											
CONT	37,7±0,3	37,4±0,3	37,2±0,3	37,2±0,4	37,0±0,4	36,4±0,4	36,8±0,4	36,5±0,4	36,4±0,5	36,3±0,5	36,1±0,6
SRP	36,5±0,7	36,2±0,7	36,1±0,6	35,9±0,6	35,8±0,7	35,7±0,7	35,6±0,7	35,6±0,7	35,4±0,8	35,3±0,8	35,2±0,8
HSRP	37,0±0,2	36,7±0,2	36,3±0,3	35,2±0,6†	34,8±0,5*‡	33,9±0,5*‡	33,4±0,6*‡	32,5±0,9*‡	31,8±0,8†§	31,0±0,9†§	30,5±0,9†§
<b>AP</b>											
CONT	37,4±0,3	37,2±0,3	37,1±0,3	37,0±0,3	36,9±0,3	36,8±0,4	36,7±0,3	36,5±0,4	36,5±0,5	36,3±0,5	36,2±0,6
SRP	36,3±0,7	35,9±0,7	35,6±0,7	35,4±0,7	35,4±0,8	35,3±0,8	35,3±0,8	35,1±0,8	35,0±0,9	35,0±0,9	34,9±0,9
HSRP	36,7±0,5	36,8±0,3	35,3±0,5‡	34,4±0,7‡	34,0±0,6‡	33,5±0,7‡	33,1±0,7*‡	32,4±0,9*‡	31,8±0,9*‡	31,1±1,0†§	30,5±0,8†§
<b>ADA prox</b>											
CONT	38,1±0,3	37,8±0,3	37,7±0,3	37,6±0,3	37,5±0,3	37,4±0,4	37,3±0,3	37,1±0,4	37,1±0,5	36,9±0,5	36,7±0,6
SRP	36,6±0,7	36,4±0,9	35,4±0,8†	35,2±0,8†	35,4±0,9†	35,0±0,9†	35,1±0,9†	34,9±0,9†	34,8±0,9†	34,7±1,0†	34,6±0,9†
HSRP	37,4±0,3	37,1±0,3	32,5±1,4†	32,0±1,6*‡	30,4±1,7*‡	29,9±1,5†§	30,7±1,2†§	30,7±1,5†§	29,7±1,8†§	28,7±1,9†§	38,4±1,7†§
<b>ADA dist</b>											
CONT	38,1±0,3	37,4±0,3	37,3±0,3	37,2±0,3	37,0±0,3	37,0±0,4	36,9±0,4	36,7±0,4	36,7±0,5	36,6±0,5	36,3±0,5
SRP	36,7±0,8	35,8±0,7	35,1±0,8†	35,0±0,7†	34,9±0,8†	35,0±0,8†	35,0±0,8†	34,9±0,8	34,8±0,9	34,7±0,9	34,7±0,9
HSRP	37,6±0,3	37,0±0,3	32,2±1,2‡	31,1±1,5*‡	30,5±1,5*‡	30,5±1,1†§	30,3±1,2†§	30,2±1,6*‡	29,7±1,5*‡	28,9±1,5†§	28,4±1,4†§
<b>Post-lat</b>											
CONT	38,2±0,3	37,9±0,3	37,8±0,3	37,7±0,3	37,6±0,3	37,6±0,3	37,4±0,4	37,2±0,4	37,2±0,5	37,1±0,5	36,9±0,6
SRP	36,9±0,8	36,5±0,7	36,2±0,8†	36,0±0,8†	36,0±0,8	35,8±0,9†	35,8±0,9	35,6±0,9	35,5±0,9	35,4±1,0	35,3±0,9
HSRP	37,8±0,2	37,9±0,2	35,0±0,7‡	33,8±0,9*‡	33,2±1,1*‡	32,7±1,1*‡	33,0±0,8*‡	31,9±1,1†§	31,0±1,2†§	30,1±1,4†§	29,8±1,2†§
<b>Post</b>											
CONT	38,5±0,3	38,3±0,3	38,2±0,3	38,1±0,3	38,0±0,4	37,9±0,4	37,8±0,4	37,5±0,4	37,5±0,5	37,3±0,6	37,1±0,7
SRP	37,1±0,8	36,7±0,8	36,3±0,8†	36,1±0,8†	36,1±0,8	36,0±0,9	35,9±0,9	35,8±0,9	35,7±0,9	35,6±0,9	35,5±1,0
HSRP	38,1±0,2	37,7±0,3	35,6±0,6‡	34,7±0,7‡	34,1±0,8‡	33,7±0,8*‡	33,4±0,7*‡	32,6±1,1*‡	31,6±1,2†§	30,7±1,3†§	30,0±1,3†§
<b>VD</b>											
CONT	37,2±0,2	36,9±0,3	36,8±0,3	36,7±0,3	36,6±0,3	36,6±0,3	36,4±0,3	36,0±0,5	36,2±0,4	36,0±0,5	35,9±0,6
SRP	36,3±0,7	36,1±0,8	35,7±0,9	35,5±0,8	35,4±0,9	35,2±0,9	35,2±0,9	35,1±0,9	34,9±1,0	34,9±1,0	34,7±1,0
HSRP	37,4±0,3	37,1±0,3	34,0±1,1†	33,2±1,0*‡	33,1±0,9‡	32,2±0,9*‡	32,3±0,7*‡	31,8±1,0*‡	30,8±1,1†§	29,8±1,1†§	29,2±1,0†§
<b>T Inj</b>											
SRP (N=4)	-	-	29,6±2,5	30,1±2,3	31,2±2,3	31,5±2,3	31,6±2,3	32,0±2,1	32,0±2,2	32,2±2,1	32,4±2,0
HSRP (N=7)	-	-	16,3±2,0	15,5±2,1	15,7±1,9	15,8±1,0	15,3±1,0	14,6±1,5	14,6±1,6	15,4±1,6	15,1±1,3

\* p < 0,05 vs retroperfusion normotérmica (SRP)

† p < 0,05 vs controles (CONT)

‡ p < 0,01 vs controles (CONT)

§ p < 0,01 vs SRP

T Inj = temperatura da retroinfusão

ADA prox e ADA dist = artéria descendente anterior proximal e distal do local da oclusão, respectivamente

AP = artéria pulmonar

Post = parede posterior do ventrículo esquerdo

Post-lat = parede póstero-lateral do ventrículo esquerdo

VD = parede livre do ventrículo direito

HSRP = retroperfusion sincronizada hipotérmica

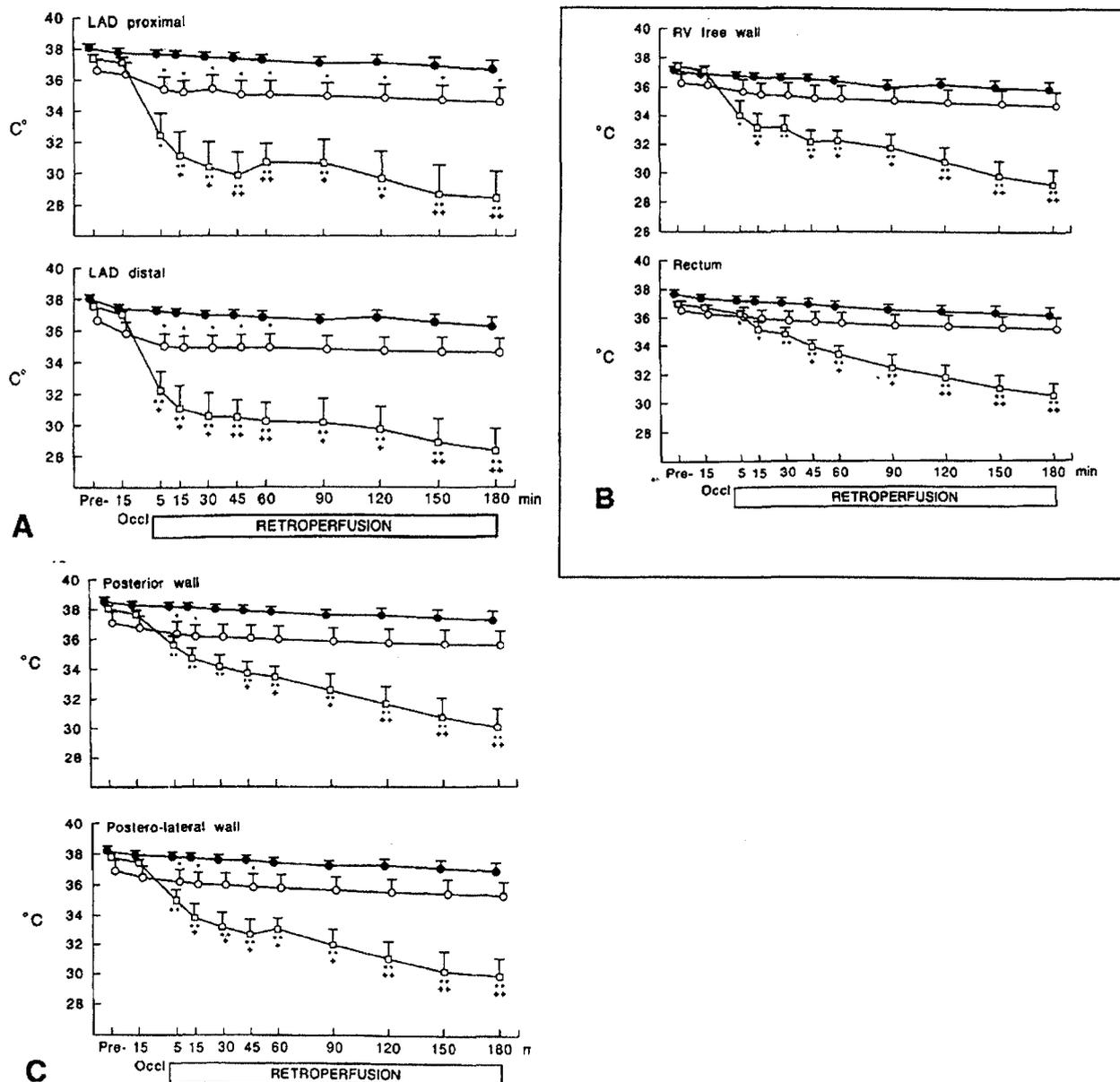


Figura 6. Temperaturas miocárdicas (valores médios e erro padrão) nos três grupos de cães antes (pré), durante a oclusão coronária (occl) e com retroperusão (SRP). A SRP foi iniciada após 30 minutos de oclusão e mantida por 180 minutos (**quadrados** = grupo da retroperusão hipotérmica; **círculos brancos** = retroperusão normotérmica; **círculos negros** = grupo controle).

A) Temperaturas miocárdicas proximal (LAD proximal) e distal (LAD distal) ao ponto de oclusão;

B) Temperaturas na parede livre do ventrículo direito (RV free wall) e retal (rectum);

C) Temperaturas nas paredes posterior (posterior wall) e pótero-lateral (postero-lateral wall).

\* =  $p < 0,05$  e \*\*  $p < 0,01$  vs. grupo controle;

+ =  $p < 0,05$  e ++  $p < 0,01$  vs grupo de retroperusão normotérmica.

**Tamanho do infarto e áreas de risco.** Não houve diferenças significativas em relação ao tamanho da área de risco entre o grupo controle (29,7 +/- 2,7% da massa ventricular esquerda), o grupo tratado com retroperusão normotérmica (28,4 +/- 3,3%), ou o grupo tratado com retroperusão

hipotérmica (29,6 +/- 1,4%). O tamanho do infarto (medido como o percentual da área de risco) foi estatisticamente menor no grupo da retroperfusão hipotérmica (6,2 +/- 3,3%) comparado ao grupo controle (64,9 +/- 14,0%) ou ao grupo de retroperfusão normotérmica (24,1 +/- 6,7%). Valores percentuais semelhantes foram obtidos em relação ao tamanho do infarto medido em termos do percentual da massa ventricular esquerda necrosada (Figura 7). Ao exame macroscópico do sistema venoso coronário, não se observou dano significativo às veias ou ao seio coronário nos cães submetidos a retroperfusão.

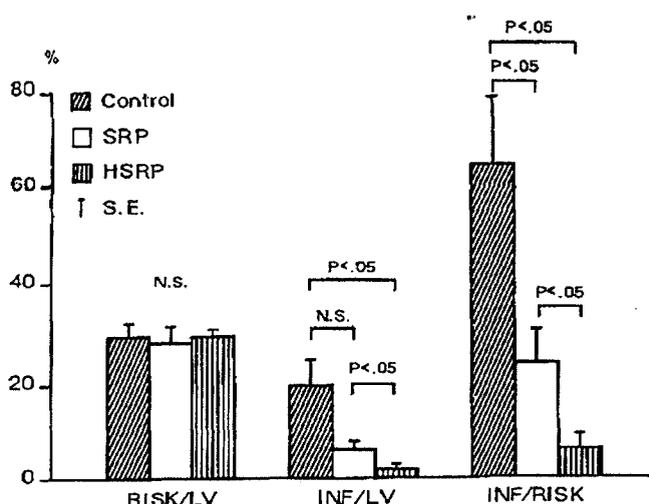


Figura 7. Áreas de risco (RISK/LV), áreas infartadas (INF/LV) e percentual de necrose em relação à área de risco (INF/RISK) nos cães dos grupos controle (Control), e nos grupos tratados com retroperfusão normotérmica (SRP) e retroperfusão hipotérmica (HSRP). NS= Não-significativo.

## DISCUSSÃO.

Este estudo demonstrou que a retroperfusão de sangue arterial moderadamente esfriado ( a 15 graus C) resultou no seguinte: 1) redução rápida da temperatura do miocárdio isquêmico; 2) redução moderada e uniforme da temperatura miocárdica nas porções não-isquêmicas do ventrículo esquerdo, e também na parede livre do ventrículo direito, isto num período de tempo relativamente curto após iniciada a retroperfusão hipotérmica. O resultado deste esfriamento rápido do miocárdio isquêmico foi uma redução no tamanho do infarto de aproximadamente 65% comparado aos cães tratados com retroperfusão normotérmica, e uma redução de 90% em relação aos cães do grupo controle.

**Hipotermia e preservação celular durante isquemia miocárdica.** Há informações em abundância na literatura demonstrando o efeito protetor da hipotermia miocárdica no coração fibrilante ou mesmo em parada cardíaca, tanto a nível experimental quanto clínico (45-49). Não parece haver dúvida também de que a hipotermia e a parada química do coração tem efeitos benéficos aditivos na proteção miocárdica. Embora seja difícil de avaliar a contribuição individual de cada um desses fatores, este efeito é inquestionavelmente aditivo em termos de rapidez em se parar o coração. No presente estudo, a temperatura miocárdica na região isquêmica foi reduzida em 5°C em média, num período de apenas 15 minutos, e utilizando infusão de sangue arterial moderadamente esfriado (a 15 graus C). Ao final do período de 210 minutos de oclusão arterial coronária e de 180 minutos de retroperfusão hipotérmica, as temperaturas miocárdicas, tanto na região isquêmica quanto nas regiões não-isquêmicas, situaram-se em torno de 28 a 29,5 graus C. De acordo com estudos previamente publicados (45, 48), este grau de redução da temperatura miocárdica seria suficiente para proteger o miocárdio isquêmico temporariamente, impedindo a rápida progressão das células isquêmicas para dano celular irreversível. De fato, neste estudo observamos uma redução acentuada do tamanho do infarto no grupo tratado com retroperfusão hipotérmica. Isto provavelmente foi ocasionado pelo efeito aditivo do aumento do suprimento de sangue arterial pela retroperfusão, somado ao efeito da hipotermia miocárdica, a qual reduz o consumo de oxigênio. É possível, também, que boa parte da conservação de energia tenha sido proporcionada pela redução significativa da frequência cardíaca secundária à hipotermia. Alguns estudos anteriores demonstram que a hipotermia reduz significativamente a frequência cardíaca, a pressão arterial sistólica, e os volumes do ventrículo esquerdo, fatores estes importantes na redução da demanda de oxigênio pelo miocárdio (48-50). Outros estudos previamente publicados também indicam que a hipotermia prolonga a duração do potencial de ação celular, enquanto que grandes gradientes de temperatura entre regiões distintas do miocárdio podem causar dispersão do potencial de ação e da sua duração, proporcionando uma situação favorável

para o aparecimento de arritmias ventriculares (51, 52). No presente estudo, apesar da rápida redução da temperatura na região isquêmica, não foram verificadas arritmias malignas, possivelmente devido ao pequeno gradiente de temperatura observado entre as várias regiões do miocárdio ventricular esquerdo. O gradiente máximo observado foi de 3,6 graus C. Também deve-se levar em conta o fato de que a própria redução da isquemia proporcionada pela retroperfusão de sangue arterial possa ter contribuído para o não aparecimento de arritmias.

**Implicações práticas do estudo.** Os efeitos benéficos do aumento do suprimento de sangue arterial pela retroperfusão, somado a redução da demanda de oxigênio causado pela hipotermia miocárdica, tem potencial para a aplicação clínica do método, particularmente em casos de oclusão arterial coronária aguda em pacientes submetidos a intervenções coronárias por catéter. Frequentemente, estes pacientes são submetidos a cirurgia de revascularização de emergência, associada com excesso de mortalidade (53). Estes pacientes poderiam ser temporariamente submetidos a retroperfusão hipotérmica no período crítico entre a oclusão coronária e o início do bypass cardiopulmonar, com a vantagem de não só poupar o miocárdio isquêmico neste período, mas também fazer uso da cardioplegia retrógrada nestes casos. Tem sido demonstrado que este tipo de cardioplegia tem vantagens sobre a cardioplegia anterógrada, tanto em pacientes com oclusão coronária aguda, quanto em pacientes com doença multiarterial severa (54-57). Isto se explica pelo fato de que a cardioplegia anterógrada nestes pacientes causa uma distribuição heterogênea da solução cardioplégica no miocárdio (58-60).

**Limitações do estudo.** Os resultados deste estudo demonstram uma redução da temperatura não só miocárdica, mas também intravascular e retal, indicando que a retroperfusão hipotérmica causa redução na temperatura corporal. Em situações clínicas, isto poderia causar tremores generalizados, que por sua vez causariam elevação na resistência vascular sistêmica. Entretanto, há que se levar em conta que neste estudo os cães foram anestesiados a temperatura ambiente, o que não ocorre necessariamente em

situações clínicas. Além disto, com o tórax aberto e exposto, sempre há perda de temperatura corporal adicional, sem contar o próprio efeito da anestesia. Outra limitação do estudo foi a falta de medida do fluxo sanguíneo miocárdico, que tem suas dificuldades em presença de retroperfusão. A função contrátil regional e global do ventrículo esquerdo não foi seqüencialmente verificada neste estudo; além disto, o número de cães em cada grupo de estudo foi relativamente pequeno. Estes são alguns fatores limitantes do presente estudo. Outro fato a ser considerado é que se as experiências tivessem sido realizadas com tórax fechado em cães não-anestesiados, talvez os resultados fossem diferentes. Ainda outros fatores a serem considerados são os conhecidos aumentos tanto da viscosidade sanguínea quanto da resistência vascular com a hipotermia (61).

## CONCLUSÃO

Este estudo demonstra que a temperatura miocárdica pode ser diminuída por via percutânea utilizando retroperfusão hipotérmica sincronizada com sangue arterial esfriado. Esta redução foi rápida e segura em cães submetidos a oclusão aguda da artéria coronária descendente anterior, causando gradientes mínimos de temperatura entre regiões distintas do miocárdio. Isto levou, em última análise, a uma redução muito importante da extensão da necrose miocárdica ao final de 210 minutos de isquemia miocárdica aguda em cães com tórax aberto. Estes achados sugerem que a investigação clínica deste método deveria ser considerada em situações específicas de isquemia aguda do miocárdio.

### 5.3.2 RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA HIPOTÉRMICA EM CÃES COM TÓRAX FECHADO PARA O TRATAMENTO DA ISQUEMIA MIOCÁRDICA AGUDA (PROTOCOLO 2)

#### OBJETIVOS:

Investigar a aplicabilidade e eficácia da retroperfusão sincronizada hipotérmica em cães com tórax fechado submetidos a oclusão aguda da artéria coronária descendente anterior.

#### MÉTODOS:

O estudo foi realizado em 21 cães, pesando entre 25 e 35 kg. Os animais foram colocados numa mesa especial para facilitar estudos ecocardiográficos, cineangiográficos e fluoroscopia (62). A anestesia foi induzida através da administração endovenosa de pentobarbital sódico (15 a 25 mg/kg) 30 minutos após sedação inicial com morfina (1mg/kg, endovenosa). A respiração foi mantida com um ventilador tipo Harvard, e o pH e pressões parciais de oxigênio e gás carbônico mantidas em níveis fisiológicos utilizando gasometrias seqüenciais. A anestesia foi mantida com doses suplementares de pentobarbital sódico, quando necessário. Solução salina isotônica foi infundida continuamente durante os experimentos numa média de 150 a 200 ml/hora. As pressões no arco da aorta e no ventrículo esquerdo foram medidas utilizando catéteres inseridos pelas artérias femorais direita e esquerda, respectivamente. Um catéter de Swan-Ganz número 7F foi colocado na artéria pulmonar através da veia femoral esquerda, enquanto que na veia femoral direita foi colocado um catéter de polietileno para infusões venosas. O débito cardíaco foi medido por termodiluição, utilizando um computador (American Edwards Laboratories). As pressões foram medidas utilizando transdutores de pressão modelo P23Dd (Statham) e registrados num polígrafo modelo V12 (Electronics for Medicine, Honeywell). Um catéter número 4F de duplo lúmen e com um balonete distal (American Edwards Laboratories, Santa Ana, California), foi introduzido através da artéria carótida esquerda e posicionado na artéria coronária descendente anterior,

para subsequente oclusão da mesma. O segundo lúmen deste catéter foi conectado a um transdutor de pressão para medida da pressão intracoronária, distalmente ao ponto de oclusão. Um catéter número 7F foi introduzido na artéria braquial esquerda para obtenção do sangue arterial a ser retroperfundido.

O sistema de bomba de retroperfusão e o catéter estão descritos no protocolo anterior (protocolo 1). Em resumo, sangue arterial obtido da artéria braquial foi bombeado via bomba de retroperfusão em diástole; o catéter de retroperfusão foi posicionado na veia cardíaca maior, próximo as veias interventriculares anteriores. Com o balonete do catéter insuflado em diástole, cria-se um compartimento, facilitando o fluxo unidirecional de sangue em direção a área isquêmica. Em sístole, e com o colapso rápido do balonete, a drenagem do sangue venoso coronário se faz livremente. Este mecanismo é inicialmente averiguado com o uso de contraste e venografia coronária. Esfriamento do sangue arterial foi feito conforme descrito no protocolo 1, sendo que a temperatura do sangue infundido neste caso foi de 20 graus centígrados. As temperaturas miocárdicas não foram obtidas nestes experimentos, pois trata-se de um modelo experimental com tórax fechado, mas foram verificadas a temperatura retal e intravascular coronária, distal ao ponto de oclusão. Isto foi possível através da introdução de um termosensor passado através do lúmen central do catéter de oclusão coronária, utilizando um fio de diâmetro muito reduzido (0,014 polegada de diâmetro). Os controles de fluxo de retroperfusão e pressão venosa coronária foram feitos conforme descrito no protocolo anterior.

**Função ventricular.** Medidas da função ventricular global e regional foram obtidas através de ecocardiografia bidimensional (modelo 850 A, Advanced Technology Laboratories, Seattle, Washington). O método utilizado para obter imagens ecocardiográficas foi descrito em detalhes anteriormente (43,62). Resumidamente, foram obtidos cortes transversais múltiplos (perpendicular ao eixo longitudinal) do ventrículo esquerdo em 5 níveis, do ápice a base (nível da valva mitral), utilizando marcadores internos (como os

músculos papilares, cordas tendíneas) para localização dos cortes. Assim, os 5 níveis de cortes transversais foram os seguintes: nível da valva mitral, nível das cordas tendíneas, nível dos músculos papilares, nível entre os músculos papilares e o ápice (denominado corte ao nível do ventrículo esquerdo baixo) e nível apical. Também foi obtido um corte longitudinal do ventrículo esquerdo utilizando a janela paraesternal e modificando a angulação do transdutor, a fim de maximizar o comprimento do ventrículo esquerdo, medida esta utilizada posteriormente para cálculo dos volumes ventriculares. As fórmulas para cálculo de volumes e fração de ejeção foram previamente validadas e publicadas (62). Os contornos endocárdicos do lúmen ventricular esquerdo nos cortes transversais (eixo curto) foram desenhados em transparências através de um monitor de televisão, e com a devida calibragem interna do ecocardiógrafo, e posteriormente planimetrados, usando um programa computadorizado especificamente para este fim, conforme descrito previamente (63). Além dos volumes ventriculares, em cada uma das secções em eixo curto foram obtidas as áreas, permitindo assim a avaliação da modificação sistólica da área, um índice de função contrátil do ventrículo esquerdo. Além deste parâmetro de modificação global da área em cada corte transversal do ventrículo esquerdo, cada um destes cortes foi adicionalmente subdividido em 8 regiões, a fim de obter dados de função contrátil regional em áreas isquêmicas e não-isquêmicas (43). Para isto, o computador automaticamente acha o centro de gravidade de cada figura geométrica desenhada, em diástole. Este ponto é então conectado a um ponto indicado pelo operador; no caso deste estudo foi utilizado o ponto de união entre a parede livre do ventrículo direito e o ventrículo esquerdo (na parede anterior). Desta forma, unindo-se estes 2 pontos obtêm-se uma linha reta, que servira de índice para subdividir a figura geométrica em 8 secções iguais, espaçadas por um ângulo de 45 graus, conforme demonstrado na Figura 8. A modificação sistólica da área foi então calculada em cada um destes 8 segmentos (43).

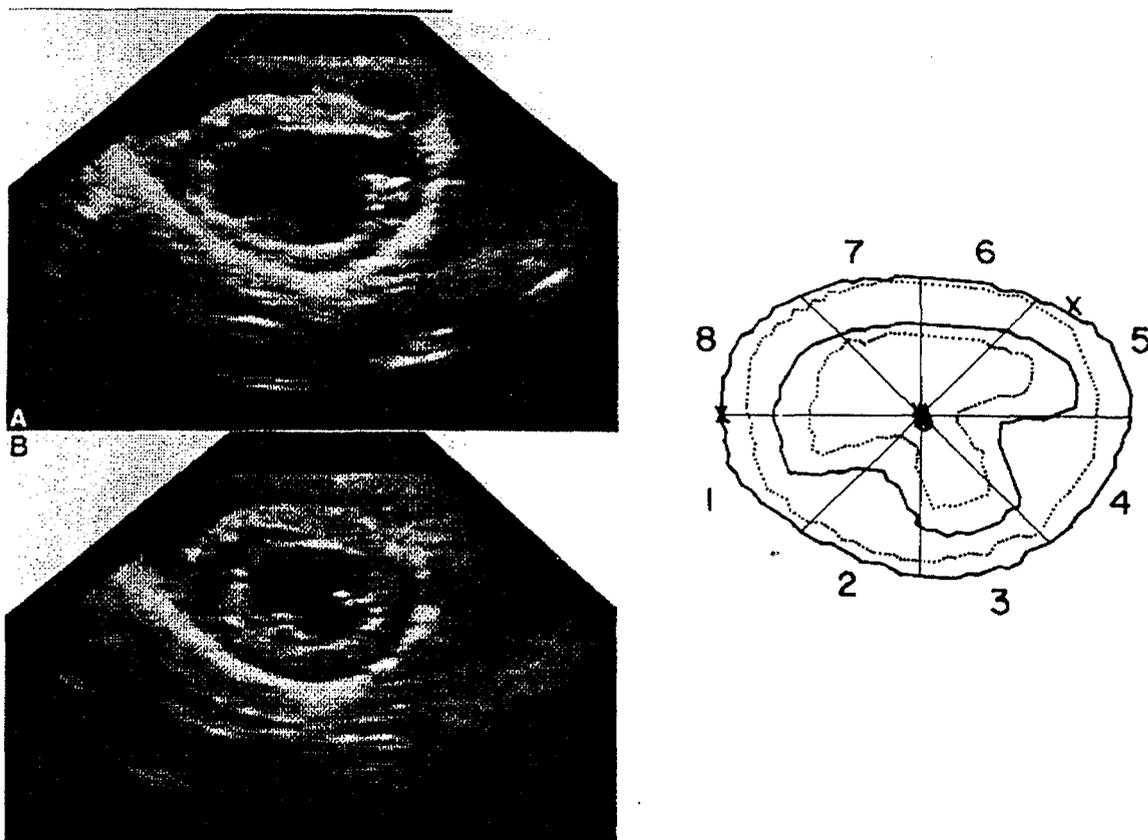


Figura 8. Corte transversal do ventrículo esquerdo ao nível dos músculos papilares com ecocardiografia bidimensional, em diástole final (A), em sístole final (B), em situação normal. A figura a direita mostra a delimitação dos contornos endocárdicos e epicárdicos em diástole final (linhas contínuas) e em sístole final (linhas pontilhadas). As secções foram subdivididas em oito segmentos por ângulos de  $45^\circ$  graus usando um programa computadorizado para análise de motilidade da parede. A linha índice é obtida conectando-se o centro geométrico do contorno endocárdico em diástole (o qual é identificado pelo computador) à junção anterior da parede livre do ventrículo direito com o septo (indicado por um X na figura). A alteração fracional da área (FAC) e o espessamento sistólico da parede são calculados em cada corte (média dos oito segmentos, ou contração seccional) e também em cada um dos oito segmentos (contração segmentar).

**Anatomia patológica.** Após o final das experiências, os cães foram sacrificados com cloreto de potássio endovenoso (ainda em anestesia profunda), o coração foi rapidamente removido (em menos de 1 minuto) e fatiado em cortes transversais de aproximadamente 8-10 mm de espessura, do ápice para a base.

As fatias foram alternadamente incubadas em cloreto de trifeniltetrazólio (fatias 1, 3 e 5) ou em solução de Carnoy (fatias 2 e 4). Esta é uma solução não-aquosa, volátil e fixativa, que preserva glicogênio tecidual. Após fixação em solução de Carnoy, os cortes são corados em PAS (Acido Schiff periódico) demonstrando claramente as áreas com perda de glicogênio, características de metabolismo anaeróbico e injúria isquêmica. Os cortes

fixados em solução de Carnoy são posteriormente limpos com óleo de madeira de cedro e embebidos em parafina. As regiões isquêmicas não se coram com o PAS. Nos cortes vizinhos aos corados com solução de Carnoy, a extensão da área isquêmica é calculada pela contigüidade das superfícies, permitindo assim um cálculo bastante aproximado da extensão isquêmica total do ventrículo esquerdo. O mesmo método foi utilizado para calcular a extensão da necrose nos cortes 2 e 4, ou seja, a área necrosada da superfície superior do corte 1 é a mesma da superfície inferior do corte 2, e a superfície necrosada inferior do corte 3 é a mesma da superfície superior do corte 2, visto que estas superfícies são contíguas. Desta forma, foi possível verificar a extensão da necrose em relação a extensão da área isquêmica não-necrosada, em cada corte transversal do ventrículo esquerdo. Estas áreas foram todas calculadas por planimetria, após transferência das mesmas para transparências plásticas. Em estudo anterior foi confirmado, através de microscopia eletrônica, que estas áreas não-coradas pelo tetrazólio correspondem a áreas de necrose (44). Em alguns cães, foi infundido carbono coloidal através da bomba de retroperfusão. Esta substância atravessa as arteríolas e se fixa no endotélio da microvasculatura, servindo então para certificação da penetração do sangue arterial retroperfundido na microcirculação (64).

**Protocolo experimental.** Os 21 cães incluídos neste estudo foram subdivididos em 3 grupos: 8 cães foram tratados com retroperfusão hipotérmica e 5 cães com retroperfusão normotérmica, sendo que a retroperfusão foi iniciada aos 30 minutos pós-oclusão coronária e mantida até 6 horas de oclusão. Os 8 cães restantes não receberam tratamento algum durante as 6 horas de oclusão arterial coronária (grupo controle).

**Análise estatística.** Avaliações estatísticas foram feitas com testes T (Student) para valores não-pareados, a fim de comparar alterações induzidas por retroperfusão hipotérmica e retroperfusão normotérmica àquelas alterações espontâneas que ocorrem após oclusão arterial coronária.

## RESULTADOS.

**Efeitos hemodinâmicos.** Estes achados estão colocados na Tabela 3. Em resumo, comparando o grupo tratado com retroperfusão hipotérmica com o grupo controle, observou-se o seguinte: a frequência cardíaca diminuiu 8,1 +/- 8,0% comparado a um aumento de 27,1 +/- 5,8% no grupo controle; a pressão aórtica média diminuiu 21,5 +/- 3,6% comparada a uma redução de 12,1 +/- 6,3% no grupo controle; a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo caiu 51,4 +/- 7,7% no grupo tratado comparado a uma queda de apenas 6,3 +/- 13,7% no grupo controle. A Figura 9 mostra traçados pressóricos típicos num cão tratado com retroperfusão. A retroperfusão hipotérmica não causou arritmias durante o período de tratamento.

**Tabela 3.** Variáveis hemodinâmicas (média ± erro padrão).

	Tempo após oclusão coronária				
	Controle	30 min	90 min	180 min	360 min
FC (bat/min)					
H-SRP	101±6	106±4	112±7	102±8	94±6+
N-SRP	121±6	117±7	109±8	123±7	122±15
UNTR	102±8	109±7	110±10	125±9*	156±9*
AoPm (mmHg)					
H-SRP	105±5	106±5	108±7	96±9	82±4*+
N-SRP	110±8	106±6	101±9	109±10	93±9*
UNTR	112±5	114±5	120±4	118±3	102±6
Pd2-VE (mmHg)					
H-SRP	7,7±0,9	10,3±1,2*	4,9±1,0*+	5,7±1,7+	4,4±1,3*+
N-SRP	7,8±2,9	12,6±3,4*	9,6±3,1	10,6±1,7	9,4±2,2
UNTR	8,6±0,8	14,6±1,6*	14,3±1,4	15,3±2,1*	11,8±1,7*
SVR (dinas.s.cm <sup>-5</sup> )					
H-SRP	2120±155	2567±241*	2959±296*	3366±458*	3227±440*
N-SRP	2694±342	3159±379*	2841±346*	3925±502*	3254±697*
UNTR	2667±290	3203±337*	3885±345*	4226±346*	3010±198
LAD-Pd/AoPd					
H-SRP	0,96±0,001	0,18±0,005*	0,16±0,003*	0,18±0,02*	0,17±0,009*
N-SRP	0,94±0,02	0,16±0,001*	0,14±0,004*	0,13±0,004*	0,15±0,007*
UNTR	0,95±0,003	0,20±0,01*	0,20±0,02*	0,16±0,09*	0,18±0,005*

FC = frequência cardíaca

Pd2-VE = pressão diastólica final do ventrículo esquerdo

AoPm = pressão média na aorta

SVR = resistência vascular sistêmica

LAD-Pd/AoPd = pressão diastólica coronária/pressão diastólica na aorta

HSRP = retroperfusão hipotérmica

NSRP = retroperfusão normotérmica

UNTR = grupo não-tratado

\*p < 0,05 vs. controle

+p < 0,05 vs. N-SRP ou UNTR

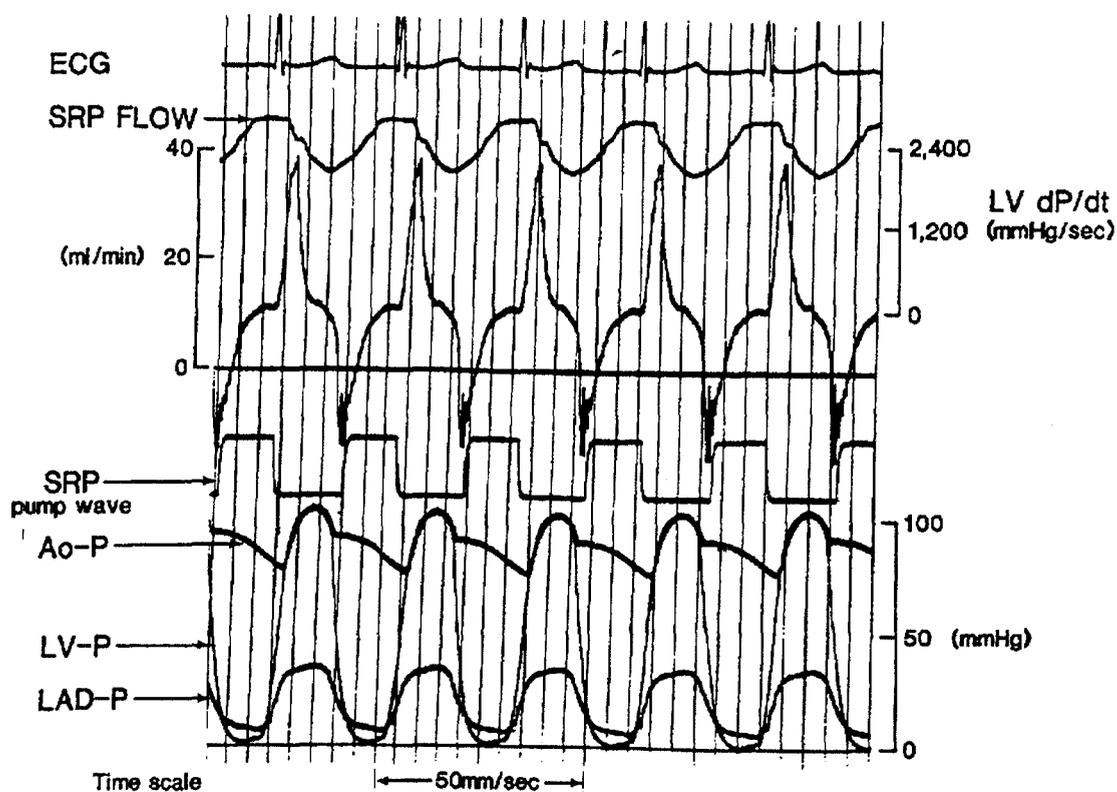


Figura 9. Traçado típico num dos cães tratados com retroperusão, obtido após oclusão coronária. SRP FLOW = fluxo de retroperusão; pump wave = sinal da bomba de SRP; Ao-P = pressão aórtica; LV-P = pressão ventricular esquerda; LAD-P = pressão na artéria descendente anterior, distal ao ponto de oclusão.

**Medidas de temperatura.** A temperatura intra-arterial coronária, distal ao ponto de oclusão da artéria, caiu apenas  $0,67 \pm 0,22^{\circ}\text{C}$  nos primeiros 30 minutos de oclusão. Aos 180 minutos, e portanto aos 150 minutos de retroperusão hipotérmica, a temperatura caiu  $4,85 \pm 0,79^{\circ}\text{C}$ , o que foi significativamente maior que a queda da temperatura retal neste período, que foi de apenas  $2,04 \pm 0,42^{\circ}\text{C}$ . Os níveis de temperatura do sangue retroperfundido foram em torno de 20 graus centígrados.

**Função ventricular esquerda.** A Figura 10 mostra as medidas ecográficas da contração seccional do ventrículo esquerdo, nos cães tratados com retroperusão hipotérmica. Não houve diferença antes ou aos 30 minutos após oclusão arterial coronária entre os grupos tratado e controle, mas ao final das 6 horas de experiência a contração ventricular no grupo tratado com retroperusão hipotérmica foi significativamente maior que no grupo controle, embora longe dos valores pré-oclusão nas regiões mais

profundamente isquêmicas, como no ápice do ventrículo esquerdo. A Figura 11 mostra os resultados da função ventricular regional do ventrículo esquerdo. Após oclusão coronária, observa-se acinesia ou discinesia nas regiões isquêmicas, e contração normal nas regiões não-isquêmicas, com melhora na função regional observada apenas no grupo tratado com retroperusão hipotérmica.

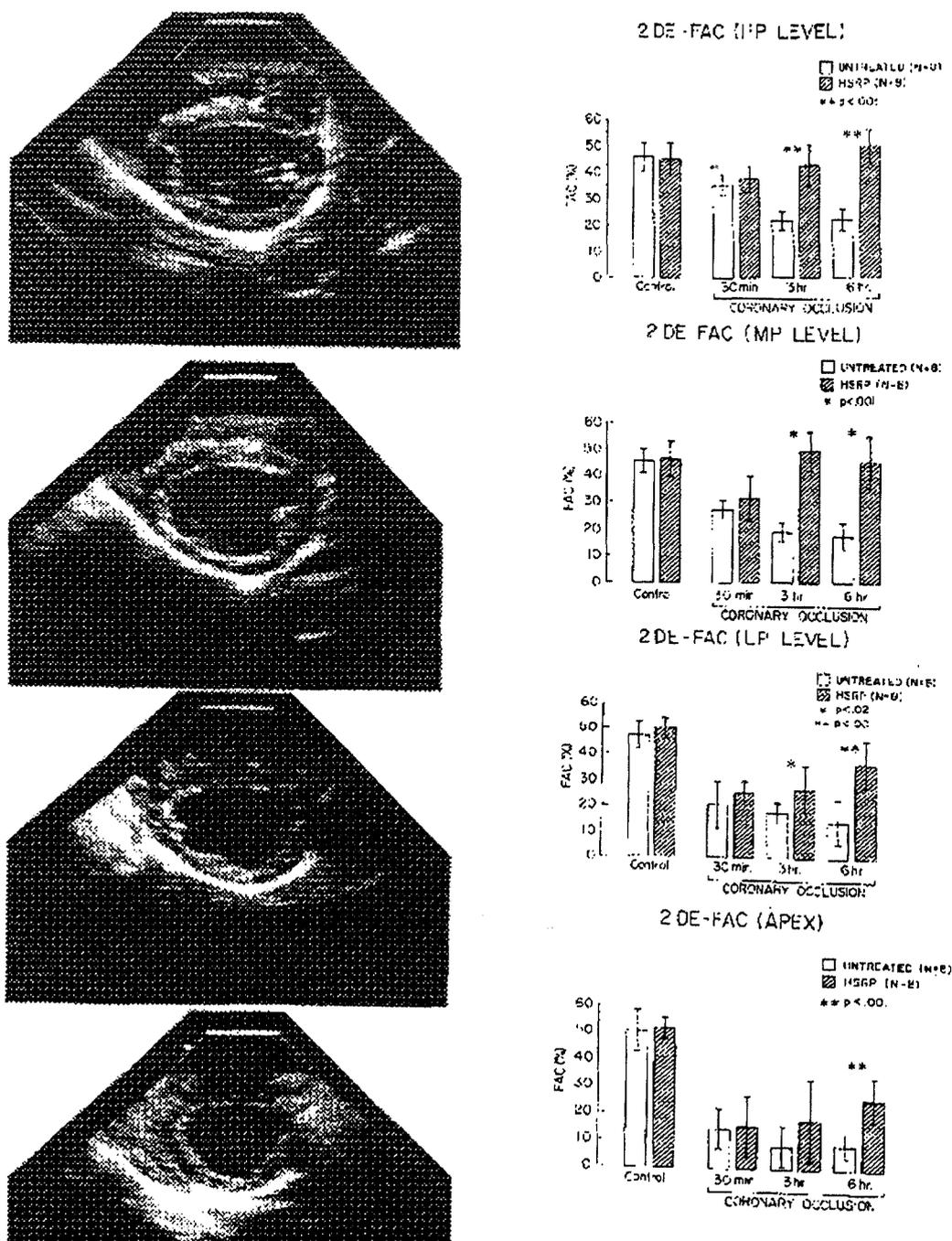


Figura 10. A) Fração de ejeção seccional (FAC) do ventrículo esquerdo (alteração seccional da área) em vários níveis obtida com eco bidimensional (2DE), da base para o ápice do VE (imagens ecográficas diastólicas em eixo curto à esquerda): nível das cordas tendíneas (HP level), nível dos

músculos papilares (MP level), nível do ventrículo esquerdo baixo (LP level), e nível próximo ao ápice do VE (APEX). Os painéis à direita mostram os resultados da FAC nos grupos controle (untreated) e tratado com retroperusão hipotérmica (HSRP), antes da oclusão (control), aos 30 minutos, 3 horas e 6 horas após oclusão coronária (coronary occlusion). Nota-se uma piora gradual da contração no grupo controle, e uma melhora no grupo tratado. Os valores de p entre os grupos nos diversos tempos durante os experimentos estão indicados à direita.

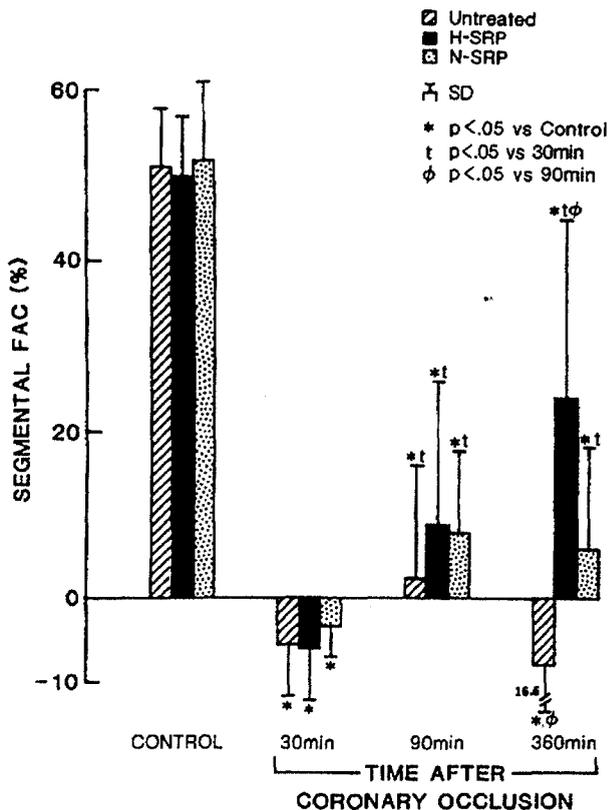


Figura 11. Fração de ejeção segmentar (segmental FAC) nos grupos tratados com retroperusão hipotérmica (H-SRP), normotérmica (N-SRP) e em cães não-tratados (untreated), em situação basal (control) e após oclusão coronária (time after coronary occlusion).

Em termos de função ventricular esquerda global, observou-se uma redução importante nos volumes diastólico e sistólico final do ventrículo esquerdo no grupo tratado com retroperusão hipotérmica, além de uma melhora na sua fração de ejeção, contrastando com uma deterioração progressiva no grupo controle; um comportamento intermediário foi observado no grupo da retroperusão normotérmica, conforme ilustrado na Figura 12. Portanto, no grupo de cães tratados com retroperusão hipotérmica entre 30 e 360 minutos de oclusão arterial coronária mantida, houve melhora tanto na função ventricular esquerda global quanto regional, sendo que no grupo controle não se observa melhora nestes parâmetros.

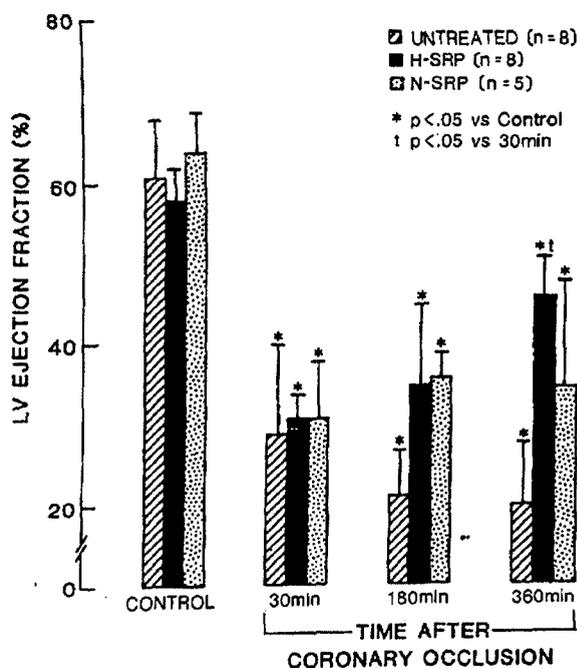


Figura 12. Fração de ejeção global do ventrículo esquerdo (LVEF). Nota-se aumento da fração de ejeção 3 horas após oclusão coronária (2,5 horas de HSRP), com um aumento ainda maior 6 horas após oclusão (5,5 horas de H-SRP), ao contrário de uma deterioração progressiva no grupo não-tratado. Os valores de p estão indicados na Figura.

Untreated = grupo controle; HSRP = retroperfusão hipotérmica; N-SRP = retroperfusão normotérmica; N = número de cães estudados; control = medidas pré-oclusão.

**Patologia.** Amostras de fotografias dos cortes transversais do ventrículo esquerdo para avaliação da isquemia (depleção de glicogênio) e necrose são mostrados na Figura 13. As fotos da esquerda mostram superfícies contíguas de cortes transversais do ventrículo esquerdo num cão não-tratado após 6 horas de oclusão arterial coronária. O tamanho das áreas de isquemia e necrose são similares. As fotos da direita são cortes equivalentes num cão tratado com retroperfusão hipotérmica. Nota-se que, apesar da área isquêmica ser relativamente extensa, a área necrosada é mínima e limitada a região subendocárdica, indicando que o tratamento resultou numa redução da extensão da necrose. Análise estatística destes dados são mostrados na Figura 14, comparando os grupos controle e tratado com retroperfusão normotérmica ou hipotérmica. Enquanto a diferença no tamanho da área isquêmica não atingiu valores estatisticamente significativos, o tamanho da área necrosada foi muito menor no grupo tratado com retroperfusão hipotérmica.

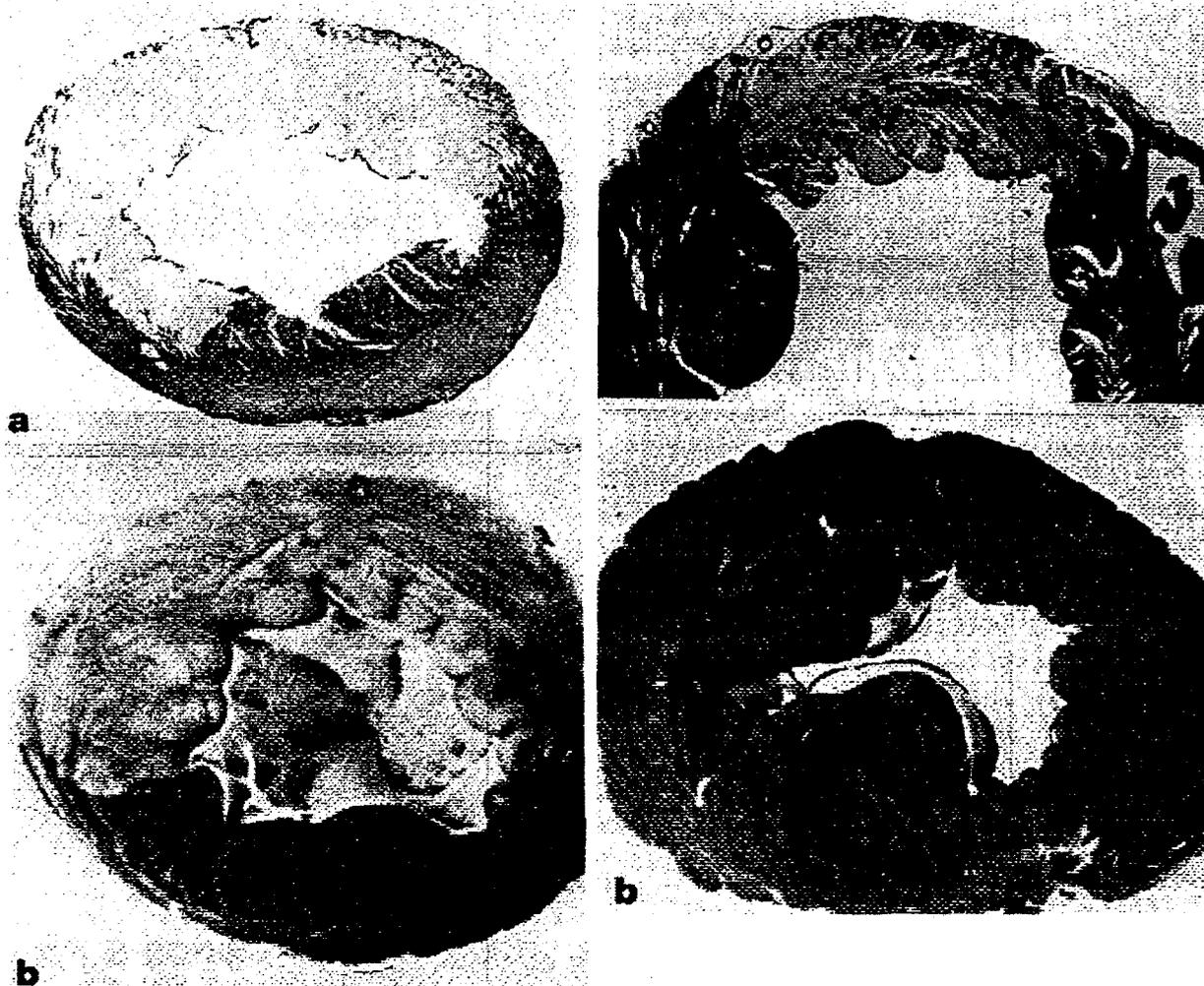


Figura 13. Secções histológicas coradas com PAS para glicogênio (figuras superiores) e superfície contígua de cortes corados com cloreto de trifênil tetrazólio para demonstração de necrose (figuras inferiores). Os cortes à esquerda são de um animal do grupo não-tratado, e os à direita são de um cão tratado com retroperfusão hipotérmica. Nas fotos à esquerda nota-se uma área isquêmica (com depleção de glicogênio) relativamente extensa (a), com uma área igualmente extensa necrosada (b), caracterizada pelas partes não-coradas (pálidas). Já nas fotos à direita a área isquêmica é menor (a) (extendendo-se de 11 a 1 hora), não confluenta, e não se observa necrose no corte corado com cloreto de trifênil tetrazólio (b, à direita).

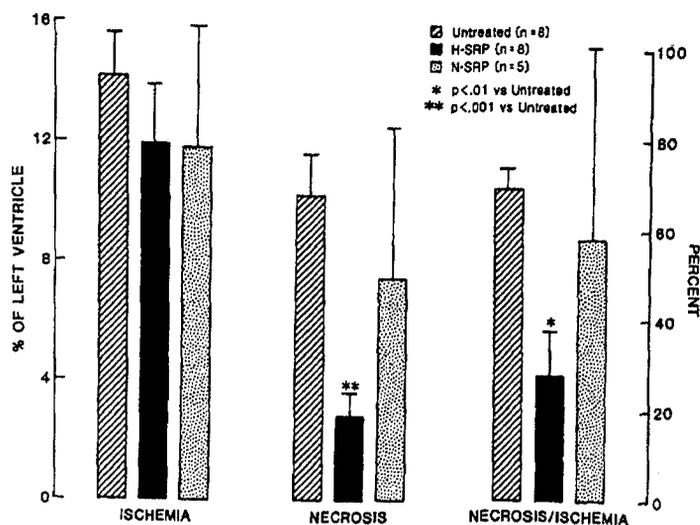


Figura 14. Extensão da isquemia (ischemia) e necrose (necrosis) em percentual da massa do VE (% of left ventricle) com retroperfusão hipotérmica (H-SRP), retroperfusão normotérmica (N-SRP) e cães não-tratados (untreated). Nota-se que a extensão da isquemia provocada pela oclusão da artéria descendente anterior foi semelhante nos três grupos, mas a quantidade de tecido necrosado da massa ventricular esquerda foi bem menor no grupo tratado com retroperfusão hipotérmica. Os valores de p estão indicados.

## DISCUSSÃO

A retroperfusão normotérmica por si já tem demonstrado efeitos benéficos distintos no infarto agudo do miocárdio experimental (32,39). Este estudo mostra que a retroperfusão hipotérmica parece ser bem mais efetiva, estendendo a viabilidade miocárdica e, ao mesmo tempo, melhorando a função ventricular esquerda. Estes benefícios provavelmente refletem um efeito sinérgico entre o aumento de perfusão do tecido isquêmico pela retroperfusão e a redução da demanda de oxigênio pelo músculo cardíaco, propiciado pela redução da temperatura miocárdica. Embora não tenha sido especificamente avaliada neste estudo com tórax fechado, informações de estudos anteriores indicam que a retroperfusão hipotérmica causa hipotermia miocárdica moderada, não reduzindo as temperaturas miocárdicas abaixo de 30 graus C. Além disto, a retroperfusão hipotérmica não parece causar gradientes significativos de temperatura entre miocárdio isquêmico e não-isquêmico (65). Isto pode explicar a ausência de arritmias ventriculares no presente estudo, pois estes gradientes, conforme demonstrado anteriormente (51, 52), podem causar arritmias. A temperatura intravascular coronária, distal ao ponto de oclusão, também sugere uma redução apenas moderada da temperatura local. As alterações hemodinâmicas e melhora na função

ventricular esquerda, demonstrados no presente estudo, estão de acordo com investigações prévias usando retroperfusão normotérmica (32, 39), exceto pela diminuição da frequência cardíaca e pela falta de redução na resistência vascular sistêmica, causados pela hipotermia.

A retroperfusão através do seio coronário é um método que pode ser utilizado quando o acesso pela via anterógrada é difícil para o tratamento da isquemia miocárdica aguda. Por outro lado, interrupção completa da drenagem venosa coronária pode ser deletéria, causando edema tecidual e hemorragia miocárdica (2, 32). Para resolver este inconveniente, o sistema por nós utilizado aplica a retroperfusão em diástole, facilitando a drenagem venosa em sístole. Este sistema fásico parece minimizar o problema de congestão vascular e edema miocárdico, além da hemorragia tecidual. O motivo pelo qual se suplementou a hipotermia miocárdica a retroperfusão foi para aumentar o seu efeito benéfico anteriormente descrito, o que ficou demonstrado no presente estudo. Para chegar a esta conclusão, durante o curso desta investigação, estudamos um número limitado de cães tratados com retroperfusão normotérmica e tórax fechado, onde se demonstrou uma redução do tamanho do infarto menor que no grupo da retroperfusão hipotérmica.

**Limitações do estudo.** Variações anatômicas locais do sistema venoso coronário podem facilitar, ou mesmo dificultar o posicionamento ideal do catéter de retroperfusão. Uma outra limitação é o não conhecimento dos efeitos deste tratamento em casos de oclusão aguda das artérias coronária direita ou circunflexa, o que exige estudos específicos para estas situações. O fato de haver uma extensa rede de comunicação entre as várias regiões miocárdicas através de suas respectivas veias e vênulas, nos possibilita formular a hipótese de que o sangue arterial retroperfundido em uma determinada região acaba atingindo regiões miocárdicas vizinhas. Além disto, estas conexões venosas não permitem com que haja um aumento crescente da pressão intravascular venosa, evitando o aparecimento de lesões teciduais secundárias ao excesso de pressão no sistema.

## 5.4 O USO DA RETROPERFUSÃO PARA PREVENIR INJÚRIA DE REPERFUSÃO

### 5.4.1 RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA HIPOTÉRMICA PREVINE A INJÚRIA DA REPERFUSÃO APÓS OCLUSÃO CORONÁRIA AGUDA (PROTOCOLO 3).

#### INTRODUÇÃO

A reperfusão miocárdica após oclusão aguda da artéria coronária está freqüentemente associada ao fenômeno de "não-refluxo", que por sua vez causa distúrbios temporários do ritmo e da função ventricular, podendo causar alterações mais prolongadas e até irreversíveis da estrutura miocárdica (66- 68). Vários tratamentos têm sido propostos para reduzir os efeitos desta síndrome pós-reperfusão, que consiste de edema celular e intersticial, hemorragia miocárdica e disfunção mitocondrial (66), todos fatores associados e predisponentes a formação de arritmias cardíacas e persistência de disfunção ventricular. Estudos experimentais indicam que várias drogas ou balão intra-aórtico (69-73), usados imediatamente antes e durante a reperfusão, podem minimizar os efeitos do fenômeno de não-refluxo, melhorando a função ventricular. Até o momento, os efeitos da retroperfusão sobre este fenômeno não foram investigados. Como o fenômeno de não-refluxo poderia ser causado pelo aumento súbito do fluxo arterial coronário normalmente associado a reperfusão, o uso da retroperfusão antes da reperfusão propiciaria uma forma gradual de restabelecer a perfusão miocárdica.

No estudo presente, nós estamos propondo o uso temporário da retroperfusão hipotérmica durante o período de oclusão coronária, seguido então de reperfusão por meio de recanalização da artéria coronária ocluída. Com isto, evitar-se-ia a forma abrupta do restabelecimento do fluxo arterial coronário que ocorre com a reperfusão, e que pode ser o fator responsável pelo fenômeno de não-refluxo. Em termos de uma aplicação clínica potencial, a proposta deste tratamento seria no sentido de propiciar um suporte

temporário em casos de oclusão arterial coronária aguda, seguido de recanalização da artéria infartada por meios clínicos ou cirúrgicos. Portanto, os objetivos deste estudo são de avaliar os efeitos da retroperfusão sobre a função miocárdica nos períodos inicial e tardio após oclusão coronária, além dos efeitos deste tratamento sobre o tamanho do infarto.

## MÉTODOS

**Preparação experimental:** quarenta e um cães, pesando 22 a 35kg, foram anestesiados com pentobarbital sódico, numa dose de 20 a 30 mg/kg. Os animais foram pré-medicados com sulfato de morfina na dose de 1,2mg/kg. Usando uma preparação asséptica, um catéter número 2 French tipo Fogarty, foi introduzido no cão com tórax fechado e sob fluoroscopia, através da artéria carótida esquerda. Após arteriografia coronária utilizando um catéter de Judkins, o balonete do catéter de Fogarty foi posicionado imediatamente antes do primeiro ramo diagonal da artéria descendente anterior, para posterior oclusão da mesma. Catéteres para medidas de pressão na aorta e tipo "pig-tail" para medidas de pressão ventricular esquerda foram introduzidos pelas artérias femoral direita e esquerda, respectivamente. As pressões foram medidas usando transdutores P23Db, e registradas junto com o eletrocardiograma (derivação V5), utilizando um polígrafo multicanal tipo V-12 (Electronics for Medicine). Além disto, um catéter de Swan-Ganz número 7 French foi colocado na artéria pulmonar para medidas de pressão arterial pulmonar e de capilar pulmonar, além de medidas de débito cardíaco por termodiluição. A primeira derivativa da pressão ventricular esquerda (dP/dt) foi medida através de diferenciação elétrica, e a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo foi avaliada usando uma magnificação de 4, para a sua melhor determinação. Antes da introdução destes catéteres, foi administrada uma dose de heparina de 10.000 U, seguida de 1500 U por hora até o término dos experimentos.

**Medidas de Função ventricular.** Ecocardiografia bidimensional foi utilizada para medidas de função regional e global do ventrículo esquerdo (Ecocardiógrafo ATL, modelo III). Os cães foram colocados em posição lateral

direita e as imagens obtidas com o transdutor direcionado superiormente, conforme descrição prévia (62). Um corte paraesternal longitudinal do ventrículo esquerdo e múltiplos cortes transversais no eixo curto, da base ao ápice do ventrículo esquerdo, foram obtidos e gravados em fitas VHS para posterior análise. Os volumes do ventrículo esquerdo e a sua fração de ejeção foram calculados usando uma regra ou fórmula de Simpson modificada, conforme publicado anteriormente (62). A modificação fracional das áreas cavitárias, da diástole para a sístole, foram calculadas nos cortes transversais curtos nos seguintes níveis: valva mitral, cordas tendíneas, corpo dos músculos papilares, músculo papilar baixo e próximo ao ápice do ventrículo esquerdo, utilizando a seguinte fórmula: FAC (alteração fracional da área cavitária) =  $\frac{EDA - ESA}{EDA} \times 100$ , onde EDA = área em diástole final e ESA = área em sístole final; os valores são expressos em percentuais. Já o espessamento sistólico da parede ventricular foi calculado pela fórmula seguinte:  $WT = \frac{WTs - WTd}{WTd} \times 100$ , onde WT = espessamento sistólico percentual, WTs = espessura ventricular em sístole, e WTd = espessura diastólica da parede ventricular. Para avaliar a função ventricular esquerda regional em áreas isquêmicas e não-isquêmicas, cada secção transversal no eixo curto foi subdividida em 8 segmentos (Figura 8), usando um sistema de eixo fixo e com um ponto indexador interno (a junção anterior da parede livre do ventrículo direito com o septo interventricular), conectado ao centro de gravidade da figura geométrica do ventrículo, este calculado automaticamente pelo computador. O computador calcula então as áreas regionais, perímetros, e espessura das paredes em diástole e em sístole, permitindo uma análise da alteração fracional da cavidade, do espessamento sistólico da parede, além da espessura diastólica da parede ventricular para cada um dos 8 subsegmentos de cada um dos 5 cortes transversais, da base ao ápice do ventrículo esquerdo, conforme detalhado na Figura 8.

**Medidas metabólicas.** Amostras de sangue arterial foram obtidas a intervalos regulares para análise dos gases sanguíneos (pressão parcial de oxigênio e pressão parcial de dióxido de carbono) e pH. Níveis de lactato foram determinados em amostras sanguíneas colhidas da aorta e da veia cardíaca

maior (estas foram colhidas após interromper a retroperfusão por 2 minutos, para permitir drenagem do sangue arterial retroperfundido), e o balanço de lactato foi calculado usando a diferença arteriovenosa de lactato dividida pelo valor arterial, conforme descrito anteriormente (67).

O sistema de retroperfusão hipotérmica utilizado foi descrito nos protocolos anteriores e desenvolvido no nosso laboratório de pesquisa. Em poucas palavras, o sangue arterial nestes experimentos foi obtido da artéria braquial esquerda, e resfriado a nível extracorpóreo a uma temperatura de 16 graus centígrados; somente 10 minutos antes de parar a retroperfusão hipotérmica, esta temperatura foi elevada para 26 graus C, para evitar mudanças bruscas de temperatura no miocárdio retroperfundido. O fluxo de retroperfusão foi mantido em torno de 60 ml/min, para manter uma pressão de pico no sistema venoso coronário inferior a 60mmHg. As temperaturas retais também foram avaliadas para se verificar o nível de hipotermia corporal durante os experimentos.

**Protocolo experimental.** Em todos os cães, a artéria coronária descendente anterior foi ocluída por um período de 3 horas, e então reperfundida através de desinsuflação do balonete do catéter ocluser e sua retirada completa a seguir. O grupo controle (grupo A) não recebeu qualquer tratamento entre 0 e 3 horas de oclusão, enquanto que o grupo B recebeu retroperfusão hipotérmica entre 30 minutos e 3 horas de oclusão coronária (grupo B-1) ou até 1 hora após reperfusão anterógrada (grupo B-2). As medidas hemodinâmicas, ecocardiográficas e metabólicas foram aferidas em condições basais (pré-oclusão coronária) e aos 30, 90 e 180 minutos pós-oclusão coronária; durante a reperfusão, medidas foram tomadas aos 15,30 e 60 minutos pós-reperfusão. Após este período, os cães foram transferidos para viveiros especiais, após a retirada dos catéteres e sutura das feridas. Penicilina G e estreptomicina foram utilizados diariamente nos 5 primeiros dias. Medidas ecocardiográficas foram obtidas com os cães conscientes (não anestesiados ou sedados) 24 e 72 horas após a reperfusão, para verificação da função ventricular esquerda. No sétimo dia pós-reperfusão, os cães foram novamente

anestesiados, e as medidas hemodinâmicas e ecocardiográficas repetidas, após instrumentação apropriada.

**Patologia.** Ao final dos experimentos, no sétimo dia pós-reperfusão, os cães foram sacrificados com uma superdose de cloreto de potássio endovenoso, ainda sob anestesia profunda. Após abertura do tórax e retirada completa do coração, foi feita análise macroscópica e o ventrículo esquerdo fatiado em cortes transversais de 8 a 10 mm de espessura, perpendiculares ao seu eixo longitudinal. As fatias do ventrículo foram então rinsadas com solução fisiológica, e imediatamente incubadas em cloreto de trifenil-tetrazólio para determinação do tamanho do infarto, conforme anteriormente descrito (44). Após coloração, as fatias foram fixadas em formalina e depois fotografadas; as áreas infartadas foram então planimetradas, e o percentual da massa ventricular esquerda estimada após pesagem de cada fatia, sempre removendo tecido atrial, ventrículo direito e remanescentes dos vasos da base e pericárdio. Inspeção macroscópica e microscópica do sistema venoso coronário foram feitas para verificação de possíveis lesões causadas pela retroperfusão.

**Análise estatística.** Os efeitos da oclusão arterial coronária e da reperfusão sobre as variáveis hemodinâmicas, medidas ecocardiográficas, metabólicas e tamanho do infarto foram analisadas e comparadas entre os grupos usando teste t Student para dados não-pareados. Os valores estão expressos em valores médios e seus respectivos desvios-padrão.

## RESULTADOS

Não houve diferença significativa entre os cães alocados aos grupos B-1 e B-2 em nenhum dos parâmetros fisiológicos avaliados; portanto, todos os cães no grupo B-1 e B-2 foram considerados como se pertencessem ao grupo B, apenas. Do total de 41 cães que entraram no estudo, 9 (22%) morreram entre 0 e 30 minutos após oclusão coronária, e antes de serem alocados para qualquer grupo, e portanto foram excluídos do estudo. Todos estes cães morreram de fibrilação ventricular, exceto um deles que teve hipotensão

arterial progressiva e choque cardiogênico. Também foram excluídos das análises 7 outros cães (17,1%) que não desenvolveram isquemia extensa suficiente para entrarem no estudo, ou seja, nestes casos não se observou alterações eletrocardiográficas características, nem houve alteração importante da contração miocárdica regional nos primeiros 30 minutos pós-oclusão arterial coronária. Dos 25 cães que sobraram, 13 foram alocados ao grupo A (sem tratamento) e 12 ao grupo B (tratados com retroperfusão). Quatro destes cães morreram entre 12 e 24 horas pós-reperfusão (dois cães em cada grupo), e dois cães do grupo A morreram entre 24 e 7 dias pós-reperfusão. Dezenove cães sobreviveram 7 dias, 9 do grupo A e 10 do grupo B.

**Alterações hemodinâmicas.** Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos A e B em termos de pressão arterial, frequência cardíaca, índice cardíaco, pressão diastólica final do ventrículo esquerdo,  $dP/dt$  ou resistência vascular periférica durante o período pré-oclusão ou aos 30 minutos de oclusão arterial coronária. Após os primeiros 30 minutos, os cães no grupo B foram então tratados com retroperfusão hipotérmica. Aos 90 minutos pós-oclusão, a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo estava significativamente mais baixa no grupo B, e aos 180 minutos o duplo produto (pressão aórtica média x frequência cardíaca) também estava mais baixo no grupo B. Durante a fase inicial da reperfusão anterógrada (aos 15 e 60 min), a frequência cardíaca e o duplo produto também estiveram significativamente mais baixos no grupo B, em relação ao grupo A. Embora a maior parte dos cães tivesse apresentado algum distúrbio hemodinâmico logo após a reperfusão, os cães no grupo A apresentaram uma deterioração hemodinâmica mais evidente neste período. Por exemplo, o trabalho sistólico do ventrículo esquerdo diminuiu somente  $13,5 \pm 7,9\%$  no grupo B, comparado com uma redução de  $37,5 \pm 15,1\%$  no grupo A, no período entre 180 minutos de oclusão e 60 minutos de reperfusão. No sétimo dia pós-reperfusão, a  $dP/dt$  máxima do ventrículo esquerdo foi significativamente maior no grupo B comparada ao grupo A. Todos estes valores estão resumidos na Tabela 4.

Tabela 4. Achados hemodinâmicos

	Controle (pré-oclusão)	Tempo após oclusão coronária			Tempo após reperfusão coronária		
		30 min	90 min	180 min	15 min	60 min	7 dias
FC (bpm)							
grupo A	78±17	92±19	88±25	99±22	106±15	112±26	123±23
grupo B	75±19	84±21	96±27	81±24	*87±19	*85±20	105±24
PAm (mmHg)							
grupo A	97±7	97±8	97±14	115±15	119±19	118±19	99±17
grupo B	102±9	98±9	101±9	107±11	111±13	111±9	105±16
Pd2-VE							
grupo A	4,0±3	11,0±5	7,0±4	6,0±6	10,0±6	12,0±8	2,0±1,5
grupo B	3,0±1	8,0±4	*2,0±2	4,0±3	7,0±5	9,0±6	4,0±2,2
RVS (d. s. cm <sup>-5</sup> x 10 <sup>3</sup> )							
grupo A	2,6±0,5	2,7±0,7	2,5±0,4	3,6±0,8	4,1±0,8	4,4±0,9	3,3±1,4
grupo B	2,9±1,1	3,0±1,3	2,7±1,0	3,6±1,1	4,1±1,6	4,4±1,7	2,3±0,6
+ dP/dt (mmHg / s)							
grupo A	1784±250	1487±234	1510±378	1584±332	1323±288	1307±272	1569±338
grupo B	2092±479	1737±314	2140±533	1856±524	1556±496	1513±497	*2183±416
TES-VE (g/m <sup>2</sup> )							
grupo A	46±8	36±5	43±14	40±15	31±7	28±7	30±15
grupo B	50±11	36±6	38±8	38±10	34±12	33±14	42±8
DP (FC x PAm x 10 <sup>3</sup> )							
grupo A	7,6±1,8	8,8±1,5	8,5±2,8	11,2±2,4	12,6±2,4	13,0±3,0	12,44,0±
grupo B	7,7±2,3	8,2±2,3	9,7±3,1	*8,5±2,0	*9,4±1,0	*9,2±1,9	11,5±4,0

\* p &lt; 0,05 vs grupo A

FC = frequência cardíaca

PAm = pressão aórtica média

Pd2-VE = pressão diastólica final do ventrículo esquerdo

RVS = resistencia vascular sistêmica (em dinas x s x cm<sup>-5</sup>)

+dP/dt = velocidade máxima de elevação da pressão ventricular esquerda

TES-VE = trabalho de ejeção sistólica do ventrículo esquerdo (em g/m<sup>2</sup> por batimento cardíaco)

DP = duplo produto

**Dados ecocardiográficos.** Os valores dos volumes diastólico e sistólico final do ventrículo esquerdo, bem como a sua fração de ejeção global estão colocados na Tabela 5. Após oclusão arterial coronária, aos 30 minutos de oclusão, e portanto antes de iniciar a retroperfusão no grupo B, observou-se um aumento dos volumes ventriculares e redução na sua fração de ejeção global. No grupo tratado houve uma redução dos volumes, particularmente do volume sistólico final do ventrículo esquerdo, atingindo uma diferença estatisticamente significativa já aos 90 minutos de oclusão coronária, sendo que a fração de ejeção também foi estatisticamente maior no grupo B aos 90 e 180 minutos pós- oclusão. No período precoce pós-reperfusão (primeiros 60 minutos), os cães não tratados apresentaram piora na função, enquanto que no grupo tratado esta piora foi menos evidente. Já no período 24 horas pós- reperfusão, observou-se uma melhora importante na fração de ejeção nos 2 grupos, não se observando, porém, nenhuma melhora adicional significativa entre 24 horas e

7 dias pós-reperusão. No sétimo dia a fração de ejeção global do ventrículo esquerdo foi estatisticamente maior no grupo B, comparado ao grupo A.

Tabela 5. Volumes do ventrículo esquerdo e fração de ejeção (ecocardiografia bidimensional)

	Controle (pré-oclusão)	Tempo após oclusão coronária				Tempo após reperusão coronária			
		30 min	90 min	180 min	15 min	60 min	24hs	72 hs	7 dias
<b>VDF-VE</b>									
grupo A	76±12	107±22	99±18	88±16	81±24	84±16	62±15	79±14	77±7
grupo B	82±21	108±22	87±22	91±33	95±34	101±30	67±14	95±24	83±13
<b>VSF-VE</b>									
grupo A	31±6	69±19	62±10	57±11	55±17	58±13	37±11	44±9	43±8
grupo B	34±11	70±16	*43±11	48±21	55±23	59±22	31±8	41±9	38±8
<b>FE-VE</b>									
grupo A	60±4	36±7	37±5	35±5	32±4	31±5	41±6	44±6	43±7
grupo B	59±4	35±7	†50±5	†49±6	†44±7	†43±9	*54±8	*54±8	†55±5

\* p < 0,05 vs grupo A

† p < 0,001 vs grupo A

VDF-VE = volume diastólico final do ventrículo esquerdo (ml/m<sup>2</sup>)

VDF-VE = volume sistólico final do ventrículo esquerdo (ml/m<sup>2</sup>)

FE-VE = fração de ejeção do ventrículo esquerdo (%)

Em termos de função ventricular esquerda regional, os dados são apresentados na Tabela 6 e Figura 15. Aos 30 minutos de oclusão, alteração fracional da área na base do ventrículo esquerdo (corte transversal ao nível da valva mitral) não mostrou alterações importantes, devido a ausência de isquemia miocárdica nesta região. O oposto verificou-se nos cortes transversais mais próximos ao ápice do ventrículo esquerdo, com reduções severas nos níveis de contração miocárdica, conforme demonstrado na Tabela 6. Estas alterações foram progressivas no grupo A, não melhorando no período precoce pré-reperusão, enquanto que no grupo tratado observa-se melhora da função ventricular já no período pré-reperusão, durante o tratamento com retroperusão hipotérmica.

**Tabela 6.** Alteração fracional da área (ou fração de ejeção regional) nos cortes transversais (eixo curto) do ventrículo esquerdo (ecocardiografia bidimensional)

	Controle (pré-oclusão)	Tempo após oclusão coronária			Tempo após reperfusão coronária				
		30 min	90 min	180 min	15 min	60 min	24 hs	72 hs	7 dias
<b>Nível VM</b>									
grupo A	38±3	33±5	37±5	38±6	30±5	29±3	34±4	36±4	35±5
grupo B	39±4	36±6	†46±6	*44±3	*36±4	†37±3	*42±8	*44±6	*45±5
<b>Nível MP</b>									
grupo A	54±3	27±7	29±4	27±6	27±5	26±8	37±11	40±8	39±11
grupo B	54±4	31±6	†45±9	†44±12	†41±9	*40±10	†51±11	*51±9	49±4
<b>Nível VEB</b>									
grupo A	58±6	20±6	23±4	21±4	20±7	19±5	29±11	30±6	33±7
grupo B	55±5	20±6	*34±8	*33±9	*30±10	*31±16	*45±14	*43±12	*46±13
<b>Nível MP-Isq.</b>									
grupo A	53±6	1±8	1±7	-1±12	-4±7	-8±7	6±21	18±23	11±20
grupo B	56±12	3±11	†33±19	*25±22	†26±17	†24±22	*38±26	37±20	*40±17
<b>Nível MP-N Isq</b>									
grupo A	65±8	52±11	51±11	58±16	56±13	61±19	62±13	66±6	67±9
grupo B	62±11	48±12	59±9	59±8	55±12	52±14	62±9	63±10	62±8

\* p < 0,05 vs grupo A

† p < 0,001 vs. grupo A

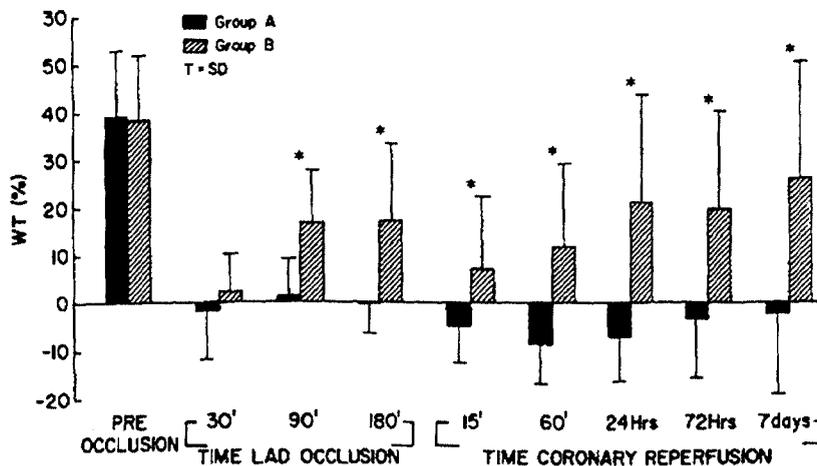
MV = eixo curto do ventrículo esquerdo ao nível da válvula mitral

MP = eixo curto do ventrículo esquerdo ao nível dos músculos papilares

VEB = eixo curto do ventrículo esquerdo ao nível próximo ao ápice

MP-Isq = região isquêmica ao nível MP

MP-N Isq = região não isquêmica ao nível MP



**Figura 15.** Função contrátil regional nas regiões isquêmicas, expressas pelo percentual do espessamento sistólico (%WT) obtido nos cortes ecocardiográficos ao nível dos músculos papilares. Grupo A = grupo controle, com 3 horas de oclusão coronária e 7 dias de reperfusão, sem outro tratamento; grupo B = mesmo protocolo, com retroperfusão hipotérmica instituída entre 30 e 180 minutos do período de oclusão (time LAD occlusion). Nota-se espessamento sistólico normal em ambos os grupos (em torno de 40%) antes da oclusão coronária (pre-oclusão), redução severa aos 30 minutos, e melhora da função no grupo tratado (grupo B) mesmo durante o período de oclusão (90' e 180'). Durante o período de reperfusão (time coronary reperfusion) há uma piora inicial da função contrátil em ambos os grupos, mas uma melhora tardia (após 24 horas) apenas no grupo tratado com retroperfusão hipotérmica.

\* = p < 0,05 vs. grupo A; as barras representam valores médios com o desvio padrão.

Os dados referentes a espessura diastólica da parede, tanto em regiões isquêmicas como não-isquêmicas, estão apresentados na Tabela 7.

**Tabela 7.** Espessura diastólica da parede do ventrículo esquerdo (em mm) obtida dos cortes em eixo curto (ecocardiografia bidimensional)

	Controle (pre-oclusão)	Tempo após oclusão coronária			Tempo após reperfusão				
		30 min	90 min	180 min	15 min	60 min	24 hs	72 hs	7 dias
<b>Nível VM</b>									
grupo A	8,6±0,9	8,6±0,7	8,3±0,8	8,8±0,8	8,7±1	9,1±0,9	9,5±2	9,5±1	9,0±0,8
grupo B	9,1±1	9,2±1	9,3±1	9,3±1	9,4±1	9,5±1	9,8±2	9,5±1	9,2±1
<b>Nível MP</b>									
grupo A	8,9±0,9	8,5±0,6	8,2±0,5	8,5±0,8	10±0,9	10,0±1	10,4±2	10,3±1	10,0±1
grupo B	9,2±1	8,9±1	9,0±1	9,3±1	9,5±0,9	9,4±1	9,8±1	9,6±1	9,2±9
<b>Nível VEB</b>									
grupo A	7,6±0,7	7,5±0,6	7,6±0,4	7,5±0,5	10,1±1	10,5±1	10,4±2	10,2±1	9,5±2
grupo B	8,3±1	8,0±0,7	8,3±1	8,6±1	9,0±0,8	*8,9±0,7	*9,0±1	8,9±1	8,4±0,9
<b>Nível MP-Isq</b>									
grupo A	8,4±0,7	7,3±0,7	7,7±0,6	8,2±1	12,2±2	12,6±2	12,1±1,4	12,0±2	11,2±2
grupo B	9,2±1	8,1±0,9	9,2±1	9,3±1	*10,0±1	*10,3±1	†10,1±1	*9,6±1	*8,8±1
<b>Nível MP-N Isq</b>									
grupo A	9,1±0,9	8,6±1	8,7±1	8,7±1	9,5±0,7	9,1±1	10,2±2	9,5±1	9,1±1
grupo B	9,7±1	9,7±1	9,8±1	9,6±1	9,7±1	9,6±2	9,8±2	9,6±2	9,6±1

\* p < 0,05 vs grupo A

† p < 0,001 vs grupo A

MV = eixo curto do ventrículo esquerdo ao nível da válvula mitral

MP = eixo curto do ventrículo esquerdo ao nível dos músculos papilares

VEB = eixo curto do ventrículo esquerdo próximo ao ápice

MP-Isq = região isquêmica ao nível MP

MP-N Isq = região não isquêmica ao nível MP

Observa-se um aumento expressivo da espessura diastólica do ventrículo esquerdo nas regiões isquêmicas em cães não tratados (grupo A) nos primeiros minutos após reperfusão. Por outro lado, este achado ocorreu em apenas 2 dos 10 cães tratados com retroperfusão. Além disto, nos cães não tratados, este aumento da espessura diastólica da parede persistiu por 72 horas, e em alguns casos foi observado até 7 dias após reperfusão. A espessura diastólica da parede medida no corte transversal ao nível dos músculos papilares diminuiu aproximadamente 15% na região isquêmica aos 30 minutos de oclusão coronária, em ambos os grupos, e aumentou 56,5 +/- 26,0% de 3 horas de oclusão para 15 minutos de reperfusão no grupo A, comparado com um aumento de apenas 12,4 +/- 27,2% no grupo B (p<0,01). A Figura 16 mostra um exemplo típico deste achado num cão não tratado (grupo A). As alterações percentuais da espessura diastólica da parede nas regiões isquêmicas (em relação a espessura medida antes da oclusão coronária) estão demonstradas na Figura 17. Nota-se também que não houve alterações

significativas neste parâmetro nas regiões não-iskuêmicas, em ambos os grupos.

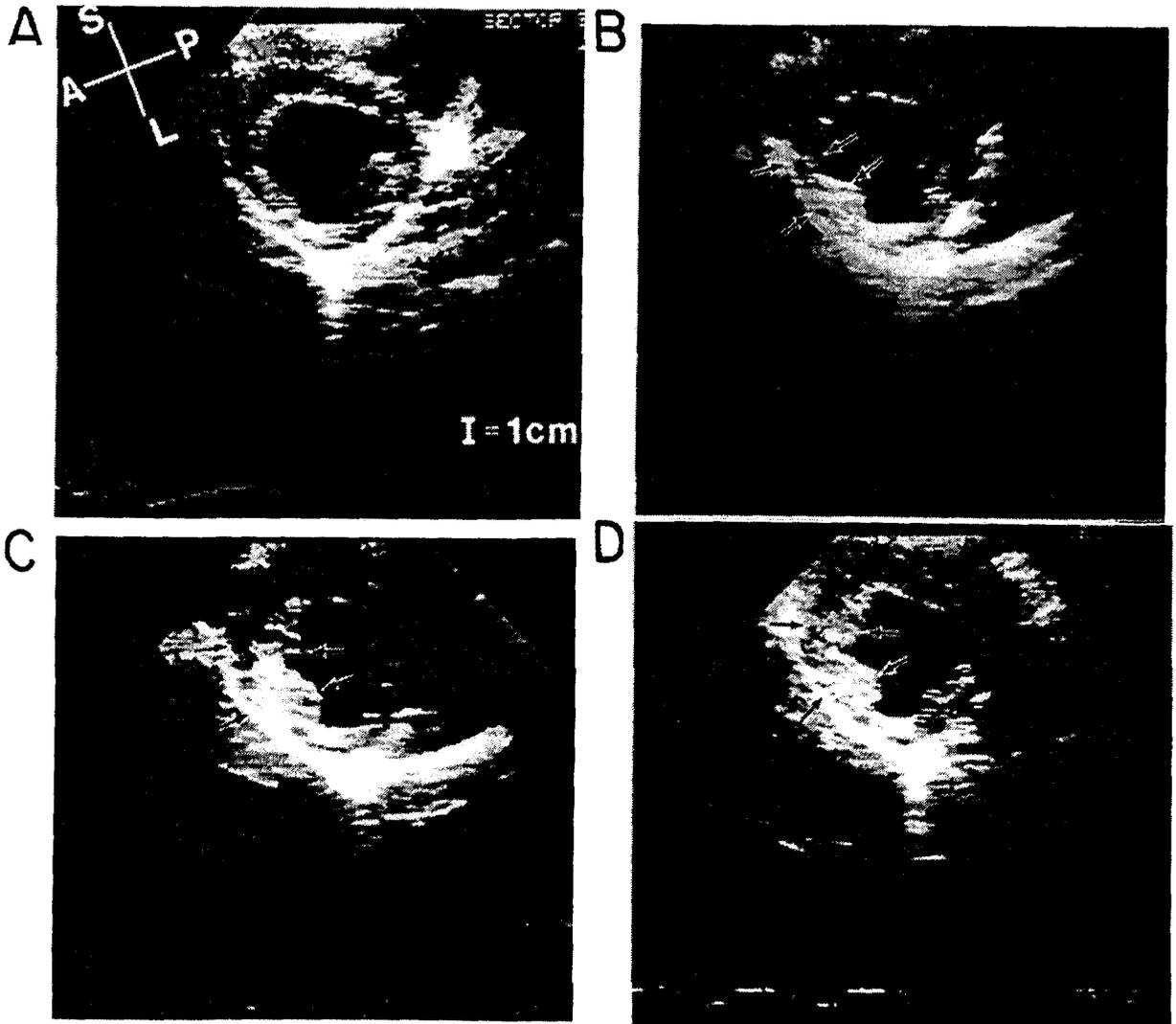


Figura 16. Cortes ecocardiográficos no eixo curto do ventrículo esquerdo, ao nível dos músculos papilares (VE médio), em diástole final num dos cães do grupo controle (grupo A, cão número A-5). As setas indicam as interfaces endocárdica e epicárdica na região isquêmica (parede anterior do VE). A) em situação normal, antes da oclusão coronária, nota-se espessura diastólica normal na região isquêmica; B) aos 180 minutos de oclusão, observa-se uma leve diminuição da espessura diastólica da parede, com aumento da densidade ultrassônica; C) aos 15 minutos de reperusão, e portanto 15 minutos após o registro da foto B, nota-se um aumento pronunciado da espessura diastólica da parede ventricular, associada a um aumento intenso da densidade ultrassônica na região isquêmica, alterações que permanecem ainda 7 dias após reperusão, porém com menos intensidade (D). Isto foi observado na maior parte dos cães do grupo A (controles), e provavelmente indica edema miocárdico severo. S = septo; L = parede lateral; A = parede anterior; P = parede posterior.

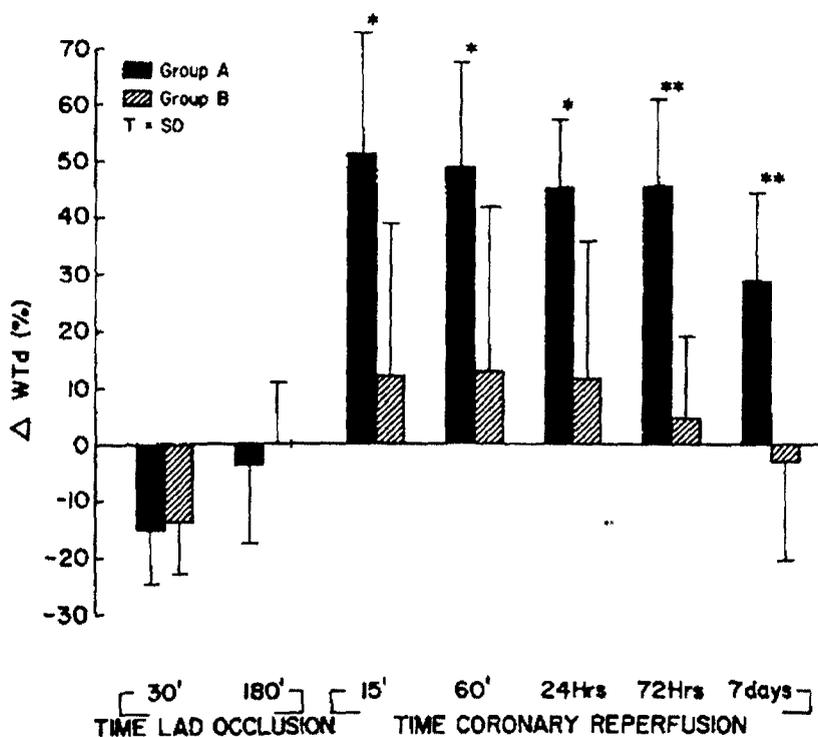


Figura 17. Percentual de alteração da espessura diastólica da parede do ventrículo esquerdo nas regiões isquêmicas ( $\Delta$ Wtd%) medida através da ecocardiografia bidimensional ao nível dos músculos papilares, em eixo curto. Observa-se uma redução na espessura diastólica da parede de aproximadamente 15% aos 30 minutos de oclusão coronária (comparada aos valores pré-occlusão), mas não houve diferença entre os grupos durante o período de oclusão (time LAD occlusion). Já no período precoce de reperfusão (time coronary reperfusion) observou-se um aumento exagerado da espessura diastólica da parede no grupo controle (barras negras), que permanece até 7 dias pós-reperfusão; já no grupo tratado com retroperfusão hipotérmica dos 30 aos 180 minutos de oclusão (grupo B), observa-se um aumento apenas discreto após reperfusão.

\* =  $p < 0,01$  vs. grupo B;

\*\* =  $p < 0,001$  vs. grupo B;

SD = desvio padrão.

**Dados eletrocardiográficos.** Em todos os cães, observou-se elevação importante do segmento ST na derivação precordial após oclusão aguda da artéria descendente anterior. As alterações verificadas entre o período pré-occlusão e aos 30 minutos de oclusão coronária foi de  $3,8 \pm 0,8$  mV no grupo A, e de  $4,3 \pm 1,9$  mV no grupo B ( $p =$  não-significativo). Durante a fase de reperfusão precoce, nos primeiros minutos, todos os cães do grupo A apresentaram taquicardia ventricular lenta (ritmo idioventricular acelerado), enquanto que isto ocorreu em apenas 4 dos 10 cães tratados com retroperfusão hipotérmica. Exceto em 1 caso, todos os cães no grupo A apresentaram ondas Q, sendo que 6 dos 9 cães não tratados apresentaram complexos QS nos primeiros 60 minutos pós-reperfusão. Já no grupo B, ondas

Q foram observadas em 3 dos 10 cães, sendo que 2 deles apresentaram complexos QS logo após reperfusão.

**Metabolismo.** Resultados do balanço de lactato miocárdico estão apresentados na Figura 18. Não houve diferenças significativas entre os grupos durante o período pré-oclusão ou aos 30 minutos pós-oclusão arterial coronária. Entretanto, aos 90 e 180 minutos pós-oclusão, o balanço de lactato melhorou no grupo B, comparado com produção persistente de lactato durante todo o período de oclusão no grupo A. No período inicial pós-reperfusão, observa-se pequena extração de lactato no grupo A, em contraste com alterações persistentes da função contrátil regional nas áreas isquêmicas.

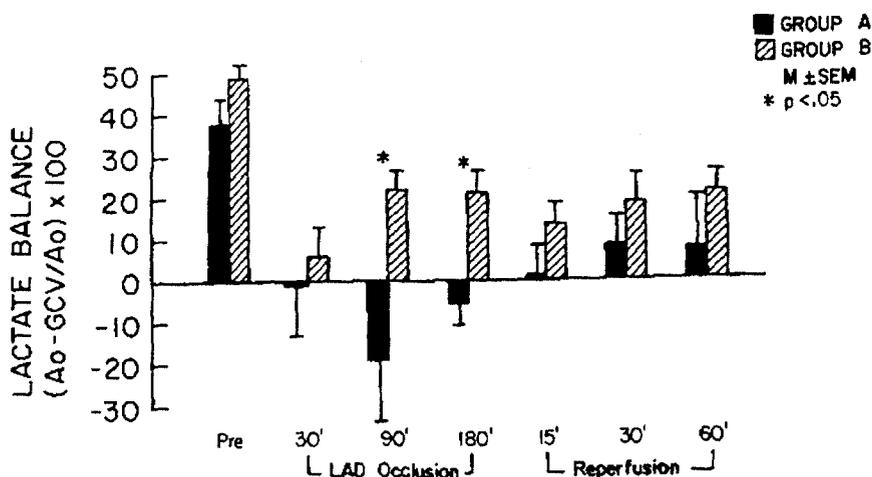


Figura 18. Balanço miocárdico de lactato medido na aorta (Ao) e veia cardíaca maior (GCV) de acordo com a fórmula mostrada na abcissa, em cães do grupo controle (grupo A) e tratados com retroperfusion hipotérmica (grupo B). Observa-se melhora no balanço de lactato aos 90 e 180 minutos de oclusão coronária (LAD occlusion) no grupo tratado, enquanto que no grupo controle nota-se produção de lactato na região isquêmica neste período, com melhora gradual no período de reperfusão (reperfusion). \* $p < 0,05$  vs. grupo controle; SEM = erro standart médio; pre = pré-oclusão.

**Temperatura corporal.** A temperatura retal diminuiu significativamente no grupo controle entre 0 e 3 horas pós-oclusão arterial coronária (de  $36,9 \pm 0,8^\circ\text{C}$  para  $36,3 \pm 1,0^\circ\text{C}$ ). No grupo B, a temperatura retal diminuiu mais que no grupo A, variando de  $36,7 \pm 0,6^\circ\text{C}$  para  $35,0 \pm 1,4^\circ\text{C}$  no mesmo período ( $p < 0,05$ ).

**Anatomia patológica.** Os resultados referentes ao tamanho do infarto, expressos em termos do percentual de necrose em relação a massa ventricular esquerda, estão colocados na Tabela 8. O tamanho do infarto foi significativamente menor no grupo tratado com retroperfusão hipotérmica (grupo B), comparado ao grupo controle. No grupo A, 6 dos 9 cães apresentaram infartos extensos e hemorrágicos sendo que em 8 dos 9 cães a região subepicárdica foi poupada, e apenas 1 cão apresentou necrose transmural. Um exemplo típico está demonstrado na Figura 19. No grupo B, a maioria dos cães apresentou necrose subendocárdica, embora em 2 casos a necrose tenha sido mais extensa (cães B-6 e B-8, tabela 18). Com respeito a anatomia do sistema venoso coronário e do próprio seio coronário, não se observou lesões importantes no grupo de cães tratados com retroperfusão, apenas lesões endoteliais leves, comumente observadas em procedimentos de cateterização das veias coronárias.

**Tabela 8.** Tamanho do infarto em cães após oclusão coronária e reperfusão (Grupo A), e com pré-tratamento com retroperfusão hipotérmica (Grupo B)

Cão #	Massa VE (g)	Necrose (g)	% of VE Necrosado
Grupo A (Grupo controle)			
A-1	130,5	15,6	12,0
A-2	160,6	20,1	12,5
A-3	102,6	13,5	13,2
A-4	97,4	22,2	22,8
A-5	135,6	22,0	16,2
A-6	122,0	6,0	5,0
A-7	116,4	3,6	3,1
A-8	94,8	6,3	6,7
A-9	129,2	24,0	18,6
Média	121,0	14,8	12,2
DP	±21,0	±7,9	±6,5
Grupo B (Grupo de Retroperfusão Hipotérmica)			
B-1	169,5	0,85	0,5
B-2	163,1	2,3	1,4
B-3	148,3	0,8	0,5
B-4	139,0	2,2	0,7
B-5	142,0	0	0
B-6	109,8	11,9	11,0
B-7	96,1	8,28	8,6
B-8	100,8	17,3	17,1
B-9	131,8	2,13	1,6
B-10	91,4	0,34	0,4
Média	129,1	†4,6	*4,2
DP	±28,2	±5,9	±5,9

\*  $p < 0,02$  vs grupo A

†  $p < 0,01$  vs grupo A

VE = ventriculo esquerdo

DP = desvio padrão



Figura 19. Cortes transversais do ventrículo esquerdo ao nível dos músculos papilares corados com cloreto de trifênil tetrazólio. O miocárdio normal cora-se em vermelho escuro, e o necrosado não se cora. No cão não-tratado com retroperfusão, apenas com reperfusão após 3 horas de oclusão coronária, observa-se uma área necrótica grande (20,1g) e estendendo-se até a região subepicárdica; o aspecto azulado (e não pálido) demonstra necrose hemorrágica, típico de reperfusão (foto à esquerda). No cão tratado com retroperfusão dos 30 aos 180 minutos de oclusão, e depois reperfundido, nota-se necrose apenas focal (setas) e subendocárdica (2,13g de tecido necrosado); neste caso, a recuperação da função miocárdica regional é completa.

## DISCUSSÃO

Este estudo sugere que retroperfusão hipotérmica sincronizada, usada após oclusão arterial coronária aguda e antes de reperfundir o miocárdio isquêmico, melhora a função ventricular e diminui o tamanho do infarto. A eficácia do método está provavelmente relacionada a dois fatores: primeiro ao aumento da oferta de sangue arterial pela retroperfusão, e segundo pela diminuição do consumo de oxigênio associado com a hipotermia miocárdica. A ausência de melhora significativa na função ventricular associada a áreas relativamente extensas de necrose nos cães não tratados, confirma resultados de estudos anteriores demonstrando que 3 horas de oclusão coronária neste modelo experimental causa dano miocárdico irreversível na maior parte da área de risco (74). As observações feitas neste estudo de um aumento acentuado da espessura diastólica da parede ventricular imediatamente após a reperfusão corroboram suposições anteriores de que a reperfusão causa edema miocárdico severo na sua fase

precoce (75, 76). Outras explicações possíveis para esse aumento da espessura da parede poderiam ser a hemorragia miocárdica (77-79), também observada nos cães não-tratados neste estudo, ou uma diminuição ou até ausência de relaxamento da área isquêmica e reperfundida (80-83).

A hemorragia miocárdica associada a reperfusão parece estar relacionada com a severidade e extensão da isquemia miocárdica precedente a reperfusão, quando o miocárdio a ser reperfundido já está, na sua maior parte, irreversivelmente lesado (79). Recentemente, Higginson e colaboradores (77) reportaram que a extensão da hemorragia após reperfusão estava inversamente relacionada ao fluxo colateral e a níveis de creatinoquinase plasmática, e concluíram que a hemorragia ocorre apenas dentro da área isquêmica irreversivelmente lesada na hora da reperfusão. Já estudos mais recentes sugerem que hemorragias miocárdicas podem ocorrer nas bordas das áreas isquêmicas, levantando a possibilidade de uma extensão da área de necrose causada por essas hemorragias (84-86). Além disso, é importante ressaltar que a hemorragia miocárdica associada a reperfusão, mesmo que ela ocorra apenas dentro da área já necrosada, altera o relaxamento das regiões miocárdicas adjacentes, piorando a função diastólica regional e global do ventrículo esquerdo (76, 86-88). Mais que isso, pode retardar o processo de cicatrização do miocárdio (89-90), como também facilitar uma eventual ruptura da parede ventricular (89-92).

**Fenômeno de não-refluxo.** Ha vários trabalhos na literatura que indicam um efeito benéfico de drogas utilizadas para amenizar o fenômeno de não refluxo associado a reperfusão (93). Estes fenômenos seriam, basicamente, os seguintes: a) edema celular (94); b) edema intersticial e conseqüentemente compressão extravascular da microcirculação (95); c) edema da própria parede arterial e até destruição da microcirculação (96); d) saturação mitocondrial de cálcio, causando disfunção da fibra miocárdica (87, 97-99); e e) hemorragia intersticial miocárdica (77-79). Administração de substâncias hiperosmolares, como manitol, tem sido propostas para reduzir o edema celular e intersticial (100-102); corticosteróides também poderiam

melhorar os efeitos deste fenômeno, como sugerido em alguns estudos(70), e bloqueadores de canais de cálcio também foram estudados, com resultados positivos em alguns trabalhos experimentais (103-105). Embora as intervenções acima possam, de fato, ter um efeito benéfico, e reduzir as complicações associadas a reperfusão, é certo que estas complicações tendem a ser menores quanto menor for a duração e severidade da isquemia miocárdica, precedendo a reperfusão. Entretanto, na maioria dos casos, na prática clínica, os pacientes chegam ao hospital já com horas de sintomas de infarto agudo do miocárdio; até que a reperfusão seja alcançada, mais algum tempo precioso se passa, o que acarreta, na maioria dos casos, uma reperfusão tardia, a qual está associada com as complicações acima citadas numa parte considerável dos casos. A hipotermia miocárdica moderada, associada ao aumento do fluxo miocárdico pela retroperfusão, pode ser uma resposta a alguns dos problemas relacionados a reperfusão. Isto foi demonstrado neste estudo experimental, resultando numa diminuição significativa do tamanho do infarto nos cães testados.

#### 5.4.2 RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA DE CURTA DURAÇÃO REDUZ O TAMANHO DO INFARTO APÓS ISQUEMIA PROLONGADA EM CÃES (PROTOCOLO 4).

##### INTRODUÇÃO

O restabelecimento rápido do fluxo sanguíneo miocárdico é a base do tratamento atual do infarto agudo do miocárdio, e parece ser a melhor forma de minimizar os efeitos da oclusão arterial coronária aguda. Entretanto, reperfusão súbita de sangue arterial pode causar dano miocárdico adicional, fenômeno este ainda não bem elucidado e controverso, denominado "injúria de reperfusão" (89, 93, 106). Várias teorias têm sido propostas para explicar este fenômeno, incluindo o efeito tóxico de radicais livres do oxigênio, os quais são formados em excesso por ocasião da reperfusão súbita de sangue arterial, conforme demonstrado em vários estudos (107-111). O retorno incompleto de sangue arterial para áreas isquêmicas, conhecido como fenômeno de "não-refluxo", tem sido implicado como responsável em outros estudos (66-68). Este fenômeno parece estar relacionado à obliteração da microcirculação causada pelos neutrófilos ativados (112-114), com microtrombose (67), e com edema celular e intersticial, todos efeitos documentados em reperfusão experimental (68,94-96).

A retroperfusão sincronizada de sangue arterial autólogo é um método que proporciona um restabelecimento parcial do fluxo miocárdico em áreas isquêmicas, conforme verificado anteriormente. Nestes estudos anteriores, entretanto, a retroperfusão foi instituída nos primeiros minutos após isquemia miocárdica, num momento que a isquemia ainda era totalmente reversível. No presente estudo, nós pretendemos investigar o efeito da retroperfusão numa fase mais avançada do processo isquêmico, quando a degeneração das células miocárdicas e endoteliais já são mais evidentes. Nossa hipótese foi de que os efeitos de expansão do sistema veno-capilar na área isquêmica causada pela retroperfusão, bem como o seu efeito de lavagem ("washout") de metabólitos da área isquêmica, poderiam diminuir a obstrução

da microcirculação pelos granulócitos, reduzindo assim a liberação de radicais livres do oxigênio e seus efeitos tóxicos sobre o miocárdio (115-117). Além disto, o fato de a retroperfusão restabelecer apenas 20 a 60% do fluxo miocárdico, conforme demonstrado em estudos anteriores (118-119), implicaria numa reperfusão de sangue arterial parcial e talvez mais gradual do que a reperfusão anterógrada clássica. Escolhemos um período de 3 horas de isquemia por sabermos de antemão que este período geralmente está associado a uma lesão irreversível de grande parte da área de risco neste modelo experimental (74).

## MÉTODOS

Neste estudo foram utilizados 22 cães pesando entre 19 e 28 kg, os quais foram pré-medicados com sulfato de morfina intramuscular, aproximadamente 30 minutos antes da anestesia, numa dose de 2mg/kg/peso. A anestesia foi então induzida com tiopental sódico (25 mg/kg) intravenoso, e após intubação traqueal mantida com uma mistura de ar ambiente e oxigênio com etrano (3 a 5 %), utilizando um aparelho próprio para anestesia (Ventura 75000, Dupaco Inc, Arcadia, California) e um respirador tipo Harvard. O volume e frequência respiratórias foram ajustados para manter um pH e gases sanguíneos em níveis fisiológicos (pH entre 7,35 e 7,45, pO<sub>2</sub> entre 100 e 200 mmHg, e pCO<sub>2</sub> entre 35 e 45 mmHg, em amostras de sangue arterial). Controle eletrocardiográfico contínuo foi obtido numa derivação V4-equivalente. Um catéter número 8F foi introduzido pela veia femoral esquerda e posicionado na veia cava inferior para administração de fluidos e drogas. Heparina foi então administrada em bolo, numa dose de 8000 U e suplementada com 1500 U por hora. Um catéter número 7F foi posicionado na aorta descendente através da artéria femoral esquerda, a fim de medir a pressão arterial sistêmica e retirar amostras de sangue arterial para verificação e cálculo do fluxo miocárdico referencial. Sob controle fluoroscópico, também foi introduzido, via artéria carótida direita, um catéter número 8F com microtransdutor distal para medidas de pressão ventricular esquerda (Millar Instruments Inc, Houston, Texas). O catéter de retroperfusão número 7,5F foi posicionado na veia cardíaca maior próximo a veia interventricular

anterior, através da veia jugular interna esquerda. Para obtenção de sangue arterial para a bomba de retroperfusão, um catéter número 8F com múltiplas saídas laterais e uma distal foi posicionado na aorta através da artéria femoral esquerda. Para injeção de microsferas radioativas no átrio esquerdo, um catéter número 4F (Corday- Lang, American Edwards Laboratories, Irvine, California) foi inserido através de um catéter número 7F de teflon (44 cm, USCI, Billerica, Massachussets), trans-septalmente, utilizando a técnica de Brockenbrough. Um catéter trans-septal pediátrico de Mullins número 7F (USCI) foi usado para este propósito, e o balonete distal do catéter de Corday-Lang insuflado com 0,5 ml de contraste (renografina 76). Para coronariografia esquerda, foi usado um catéter guia mōdificado para coronária esquerda número 8F, o qual foi inserido através da artéria carótida esquerda.

**Protocolo experimental.** Após as tomadas basais dos parâmetros hemodinâmicos, ecocardiográficos e de fluxo sangüíneo miocárdico, um catéter número 3F para embolectomia tipo Fogarty (American Edwards Laboratories, Anasco, Puerto Rico) foi posicionado na artéria descendente anterior, logo após o seu primeiro ramo diagonal. O balonete foi então insuflado a 1,5 atmosferas, usando um insuflador de catéter para angioplastia (USCI), e a artéria descendente anterior foi mantida ocluída por um período de 3 horas. Para confirmar oclusão coronária completa, angiografia foi realizada a seguir, e gravada em vídeo-tape (VHS), para documentação do local exato da oclusão. Após 2,5 horas de oclusão, todas as medidas foram repetidas, inclusive as de fluxo miocárdico regional com microsferas radioativas. Nesta altura das experiências, os cães foram randomizados para o grupo de reperfusão súbita (grupo controle), ou para 30 minutos de retroperfusão seguido de reperfusão (grupo retroperfusão). Os cães com fluxo de retroperfusão inadequado ou com fluxo miocárdico transmural maior que 40 ml/min/100g no centro da região isquêmica após oclusão coronária, foram excluídos do estudo posteriormente. No grupo controle, o balonete de oclusão coronária foi subitamente desinsuflado 3 horas após oclusão coronária e o catéter de Fogarty retirado. A patência arterial foi confirmada por angiografia coronária. Medidas seqüenciais hemodinâmicas e

ecocardiográficas foram feitas aos 15, 30, 60, 120 e 180 minutos após reperfusão. Injeções de microsferas radioativas foram feitas aos 5, 30 e 180 minutos após reperfusão. No grupo da retroperfusão, a mesma foi iniciada 3 horas após oclusão arterial coronária, e mantida por 30 minutos, ainda com a artéria coronária ocluída, seguida de reperfusão do mesmo modo como no grupo controle, com interrupção da retroperfusão neste ponto. Neste grupo, medidas hemodinâmicas e ecocardiográficas foram obtidas aos 15 e 30 minutos de retroperfusão, e depois aos 15, 30, 60, 120 e 150 minutos após reperfusão anterógrada. Injeção de microsferas radioativas neste grupo foi feita aos 5, 30 e 150 minutos após reperfusão. Após a obtenção das últimas medidas, e aproximadamente 6 horas após o início das experiências, o balonete para oclusão arterial coronária foi reintroduzido na artéria descendente anterior, e posicionado no mesmo local para reclusão da artéria, usando o video-tape como guia. Azul de monastral foi então injetado no átrio esquerdo para determinação da área de risco, e os animais sacrificados em seguida com uma superdose de cloreto de potássio, ainda sob anestesia profunda. Não se usou medicação anti-arrítmica ou qualquer outra droga que pudesse vir a influenciar o tamanho do infarto.

**O sistema de retroperfusão sincronizada.** Conforme descrito anteriormente, o sistema de ativação da bomba e do catéter é sincronizado ao sinal eletrocardiográfico, a fim de bombear o sangue em diástole. O sangue arterial foi obtido da artéria femoral direita dos cães e bombeado na veia cardíaca maior, usando um catéter de retroperfusão de três lúmens (número 7,5 F, Retroperfusion Systems, Costa Mesa, California), sendo que o balonete está localizado a 1cm da ponta do catéter. O balonete é então insuflado em diástole e o sangue arterial propulsionado em direção a área isquêmica retrogradamente; em sístole, o balonete desinsufla, permitindo a drenagem de sangue venoso. Um dos lúmens do catéter é usado para monitorizar a pressão venosa coronária. A retroperfusão foi iniciada com um fluxo de 10 ml por minuto e rapidamente aumentada até que a pressão de pico na veia coronária atingisse 40 a 60 mmHg, e então o fluxo foi mantido nestes níveis.

**Medidas hemodinâmicas.** Frequência cardíaca, pressão arterial na aorta, pressões de pico e diastólica final do ventrículo esquerdo, e  $dP/dt$ , bem como a pressão venosa coronária, foram registrados em papel num polígrafo fisiológico (Honeywell Inc., Pleasantville, NJ)

**Medidas ecocardiográficas.** A fim de obter imagens de alta qualidade em eixo curto do ventrículo esquerdo, os cães foram colocados em decúbito lateral direito e o transdutor dirigido de baixo para cima, conforme descrito em detalhes anteriormente(62). Um aparelho ecocardiográfico (Ultramark 8, Advanced Technology Laboratories Co, Bothell, Washington) com um transdutor de 3,5 MHz foi usado para obtenção das imagens, as quais foram registradas num gravador tipo VHS embutido no sistema. Imagens do ventrículo esquerdo em eixo curto ao nível dos músculos papilares foram então analisadas, usando um programa computadorizado para análise da função miocárdica regional. Para tal, o espessamento sistólico da parede foi calculado usando a seguinte equação:  $\text{espessamento sistólico percentual} = 100 \times (\text{espessura sistólica da parede} - \text{espessura diastólica da parede}) : \text{espessura diastólica da parede}$ . Além disto, a espessura diastólica da parede foi analisada para se avaliar o grau de edema miocárdico após reperfusão. Todas estas medidas foram avaliadas por um dos pesquisadores, sem que o mesmo tivesse conhecimento prévio do tratamento instituído.

**Medidas de fluxo sanguíneo miocárdico.** Estas medidas foram obtidas usando aproximadamente 2 milhões de microsferas radioativas (15 $\mu$ m de diâmetro, El Dupont de Nemours, Inc., Boston, Massachussets) diluídas em 7ml de solução salina a 0,9% e injetadas no átrio esquerdo, seguida de uma injeção de 10 ml de solução salina para lavagem do catéter. Para cada injeção, o isótopo foi escolhido ao acaso, de microsferas marcadas com cobalto 57, núbídio 95, rubídio 103, estrôncio 46, selênio ou cromo 51. As amostras referenciais de sangue foram obtidas da aorta numa velocidade constante de 3,88 ml por minuto, usando uma bomba de Harvard; o sangue foi obtido iniciando um minuto antes de cada injeção de microsferas no átrio esquerdo, mantendo a retirada de sangue por um período de 5 minutos. Após a morte

dos cães, o coração foi removido e fatiado em cortes transversais de 1cm de espessura, do ápice até a base. O terceiro corte transversal, onde está o corpo dos músculos papilares, foi então subdividido em 3 zonas distintas: a zona isquêmica central (no centro da área de risco) e duas zonas adjacentes, uma septal ou medial, e outra lateral. A parede oposta do ventrículo esquerdo, (a parede posterior) e portanto não-isquêmica, foi igualmente dividida em 3 zonas. Cada uma dessas pequenas regiões foi então subdividida em camadas epicárdica, médio-miocárdica e subendocárdica, a fim de averiguar as diferenças de fluxo entre estas camadas. Nas amostras de sangue referenciais, as contagens de radiação foram feitas usando um Contador Gama (TM Analytic, modelo 1185, Elk Grove Village, Illinois), e as correções feitas por um programa de computador (Microsphere Measurement System, Micrad Inc, Knoxville, Tennessee). O fluxo miocárdico regional foi então calculado através da seguinte fórmula:  $\text{fluxo miocárdico regional} = (\text{fluxo referencial} \times \text{contagem tecidual} / \text{contagem sanguínea} \times \text{peso da amostra em gramas}) \times 100$ . O fluxo sanguíneo regional é então expresso em ml/min/100g de miocárdio. Após calcular o fluxo sanguíneo em cada uma das camadas miocárdicas, o fluxo transmural no centro das áreas isquêmicas e nas áreas não-isquêmicas foi calculado.

**Patologia.** Os cortes transversais do ventrículo esquerdo foram então traçados com folhas plásticas transparentes, separando as áreas não-coradas pelo azul de monastral (áreas de risco) das áreas coradas (áreas perfundidas). Áreas de hemorragia miocárdica foram também identificadas nestas transparências. As fatias miocárdicas foram a seguir incubadas em solução de cloreto de trifetil-tetrazólio, e as áreas infartadas (áreas não-coradas) desenhadas em outras transparências para posterior cálculo das áreas necrosadas e não-necrosadas, as quais coram em vermelho escuro. Estas áreas foram então quantificadas por um operador de computador cego aos resultados da experiência, usando um programa de planimetria. Os parâmetros calculados foram os seguintes: área de risco expressa em percentual da área total do ventrículo esquerdo, área necrosada expressa em percentual da área de risco, e área hemorrágica expressa em percentual da

área de risco. Todas as fatias, exceto aquela retirada para contagem de radioatividade, foram fixadas em formalina a 10%. Após 3 dias de fixação, estas fatias foram usadas para processamento histológico convencional, e a área de risco da superfície basal da segunda fatia (do ápice para a base), foi corada com hematoxilina e eosina. As avaliações foram feitas por um patologista experiente, sem que o mesmo tivesse conhecimento dos resultados dos experimentos.

**Análise estatística.** Todas as informações estão expressas em valores médios (média aritmética) e erro padrão. As comparações entre os grupos foram feitas com o teste t de Student; já, para análise de resultados seriados (parâmetros hemodinâmicos, ecocardiográficos e de fluxo sanguíneo miocárdico) foi utilizado análise de variância de medidas repetidas ou ANOVA. Quando foi encontrada diferença estatística neste último teste, os valores foram então analisados através do teste de múltipla comparação tipo Tukey-Kramer. A fim de estimar a relação entre o fluxo sanguíneo transmural na área de risco com o tamanho do infarto, provas de regressão linear ("least-squares") e os coeficientes de correlação foram calculados, seguidos da aplicação do teste ANOVA, a fim de testar o significado estatístico da regressão. A comparação das linhas de regressão entre os dois grupos foi feita por análise de covariância, ou ANCOVA. Resultados com valores de p menores que 0,05 foram considerados significativos.

## RESULTADOS

Todos os 22 cães sobreviveram durante o período de estudo, sendo que nenhum desenvolveu fibrilação ventricular. Um cão do grupo de retroperfusão foi excluído do estudo por ter um seio coronário diminuto, ocasionando medidas elevadas de pressão venosa coronária (> 70mmHg) com fluxo de retroperfusão de apenas 10ml/min. Dos 21 cães restantes, 3 deles (1 do grupo controle e dois do grupo de retroperfusão) tinham fluxo colateral coronário abundante pelas medidas feitas com microsferas radioativas (66,46 e 63 ml/min, respectivamente) e não se observou necrose miocárdica nestes cães, os quais foram excluídos do estudo por este motivo. Portanto, 9 cães em cada grupo formam o grupo final de experimentos incluídos nas análises.

**Parâmetros hemodinâmicos.** As medidas hemodinâmicas estão resumidas na Tabela 9. Não houve diferenças estatisticamente significativas em nenhum dos parâmetros entre os dois grupos, nas medidas feitas pré-oclusão arterial coronária e aos 180 minutos de oclusão, ou durante o período de retroperfusão ou reperfusão, exceto em termos de pressão venosa coronária. A pressão de pico no seio coronário aumentou de  $13,8 \pm 2,1$  para  $44,8 \pm 3,3$  mmHg no grupo da retroperfusão, com um fluxo retrógrado médio de  $118 \pm 19$  ml/min. Em ambos os grupos, houve um aumento da frequência cardíaca e uma diminuição na pressão de pico do ventrículo esquerdo, na  $dP/dt$  máxima e  $dP/dt$  mínima após oclusão arterial coronária e durante o período de reperfusão, mas não houve diferença estatística entre os grupos.

**Fluxo miocárdico regional.** Estes resultados estão resumidos na Tabela 10. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em qualquer dos tempos durante os experimentos. Aos 180 minutos de oclusão coronária, o fluxo sanguíneo na área de risco foi significativamente maior na camada epicárdica comparada a camada endocárdica, em ambos os grupos, conforme o esperado. No entanto, o fluxo colateral para as diferentes camadas, o fluxo transmural no centro da região isquêmica, e o fluxo na área de risco total foi similar entre os grupos. Cinco minutos após reperfusão anterógrada, o fluxo na região subendocárdica voltou aos valores pré-oclusão coronária em ambos os grupos. Já no grupo controle, o fluxo subendocárdico diminuiu aos 30 e 180 minutos pós-reperfusão, enquanto que no grupo da retroperfusão não houve alteração significativa, embora não tenha havido diferenças estatísticas entre os grupos. Estes resultados estão ilustrados na Figura 20. O fluxo na região médio-miocárdica, por outro lado, não retornou aos valores pré-oclusão neste grupo, e houve uma tendência a fluxos mais baixos nesta camada miocárdica no grupo controle, comparado ao grupo de retroperfusão (Figura 21).

**Tabela 9.** Achados hemodinâmicos

CONT	Pre Ocl	180' Ocl	15' REP	30' REP		60' REP	120' REP	180' REP
SRP	Pre Ocl	180' Ocl	15' SRP	30' SRP	15' REP	30' REP	90' REP	150' REP
<b>FC, bpm</b>								
CONT	113±8	124±8	124±5	128±4		133±5	143±8	141±7
SRP	91±7	118±7	111±8	112±7	115±6	120±8	124±7	121±8
<b>PAm, mmHg</b>								
CONT	67±5	72±7	62±4	60±5		58±4	64±3	58±6
SRP	73±6	67±3	60±4	62±4	62±8	59±5	58±5	57±3
<b>PS-VE, mmHg</b>								
CONT	87±4	95±6	83±5	82±5		83±5	88±3	82±6
SRP	95±5	87±4	82±4	83±4	82±8	79±5	80±4	80±3
<b>Pd2-VE, mmHg</b>								
CONT	3,1±0,5	6,3±1,2	6,2±1,1	6,1±1,1		6,7±1,4	5,9±1,3	5,8±1,1
SRP	6,3±1,3	6,5±1,6	6,9±1,8	6,7±1,6	5,7±1,5	5,7±1,5	3,7±1,5	4,1±1,4
<b>+dP/dt, mmHg/s</b>								
CONT	1215±79	1100±55	968±63	953±59		960±63	1098±77	1069±121
SRP	1269±57	997±83	924±56	957±72	960±118	930±110	925±44	916±57
<b>-dP/dt, mmHg/s</b>								
CONT	1237±44	1198±82	1003±89	972±64		1013±85	1138±107	1076±145
SRP	1246±47	972±76	859±47	846±65	871±121	843±96	851±50	871±56
<b>PP-SC, mmHg</b>								
CONT	17,6±3,1	16,2±2,7	17,1±2,7	15,1±2,9		15,1±2,9	14,4±3,3	13,7±2,7
SRP	19,8±3,0	13,8±2,1	44,8±3,3*	46,1±2,0*	15,3±2,9	14,0±3,0	12,8±2,6	13,6±3,5
<b>PM-SC, mmHg</b>								
CONT	10,4±1,8	10,4±1,6	10,3±2,0	10,2±2,0		9,4±2,0	8,8±2,1	8,8±1,8
SRP	10,6±1,1	8,2±1,1	26,6±1,3*	28,7±1,2*	8,1±1,4	7,8±1,5	6,8±1,6	7,3±1,7

\* p &lt; 0,05 vs Grupo Controle (CONT)

SRP = retroperfusão sincronizada

FC = frequência cardíaca

PAm = pressão arterial média na aorta

PS-VE = pressão sistólica do ventrículo esquerdo

Pd2-VE = pressão diastólica final do ventrículo esquerdo

PP-SC = pressão de pico no seio coronário

PM-SC = pressão média no seio coronário

Ocl = oclusão coronária

REP = reperusão

**Tabela 10. Fluxo miocárdico regional**

	Pré Ocl	180' Ocl	5' REP	30' REP	180 (150)' REP
<b>Área de Risco</b>					
Região Central					
Endocárdio					
CONT	81,9±16,2	4,4±1,8	97,7±28,9	73,4±20,5	57,3±18,5*
SRP	73,4±8,2	4,5±1,6	115,6±22,0	80,9±19,7	118,9±38,0
Médio-miocárdio					
CONT	74,3±14,5	6,3±2,1	56,1±20,4	52,3±18,2	50,7±18,9
SRP	70,3±9,3	9,4±3,3	118,5±40,4	72,7±18,2	91,9±29,2
Epicárdio					
CONT	61,4±9,7	26,4±6,6	101,4±19,7	86,6±11,2	107,9±31,4
SRP	52,3±5,2	21,6±6,2	156,4±50,4	87,8±20,5	93,5±20,2
Transmural					
CONT	71,6±13,0	12,7±3,3	88,7±13,1	73,5±8,6	65,7±20,6
SRP	64,6±7,1	12,4±3,8	133,0±38,2	81,4±16,9	97,1±26,8
Região total					
CONT	74,2±12,8	15,4±3,5	95,2±11,4	78,8±6,2	71,7±17,6
SRP	65,7±7,7	16,0±3,7	134,1±32,5	83,6±16,3	96,5±25,6
<b>Área não-isquêmica</b>					
Região central					
Endocárdio					
CONT	113,0±20,7	113,8±18,2	107,3±18,1	107,2±21,2	114,1±22,2
SRP	85,0±10,3	85,6±11,7	102,9±14,8	76,5±7,7	90,7±20,0
Médio-miocárdio					
CONT	104,4±20,0	102,6±14,8	97,2±14,2	94,8±13,6	123,0±30,6
SRP	82,1±8,1	85,8±12,6	96,6±13,4	72,4±7,2	83,2±15,5
Epicárdio					
CONT	77,6±10,1	94,6±18,7	81,5±12,9	79,0±11,3	118,0±24,3
SRP	62,9±6,7	72,0±12,3	82,8±15,3	62,6±7,2	80,5±16,6
Transmural					
CONT	96,5±15,0	103,1±17,2	94,5±14,4	93,5±15,4	109,0±27,4
SRP	76,0±8,0	80,7±12,0	93,1±14,0	70,0±7,1	84,7±17,4
Região total					
CONT	93,6±15,5	98,7±15,9	89,4±12,4	88,3±12,7	106,5±26,3
SRP	73,1±7,7	75,9±10,4	89,2±13,2	67,7±6,5	81,3±15,8

\* p &lt; 0,05 por análise de variação

Ocl = oclusão coronária

REP = reperfusão

Região Total = fluxo transmural nas regiões centrais e bordas

CONT = Grupo controle

SRP = retroperfusão sincronizada

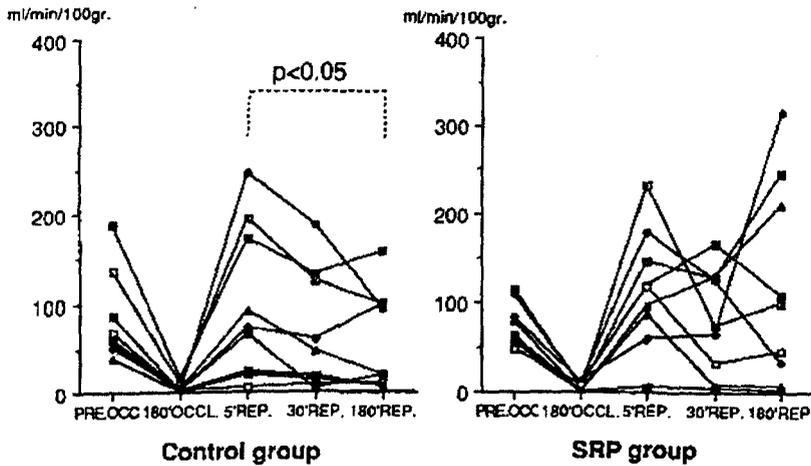


Figura 20. Valores individuais do fluxo sanguíneo miocárdico no centro da região isquêmica, na camada subendocárdica (eixo vertical, em ml/min/100g de miocárdio). No grupo controle (control group) observa-se uma redução significativa do fluxo sanguíneo aos 180 minutos pós reperfusão (REP), o que não se observa no grupo tratado com retroperfusão (SRP); Pre-occl = Pré-oclusão; 180'occl = 180 minutos de oclusão coronária; \* $p < 0,05$  entre 5 e 180 minutos de reperfusão no grupo controle.

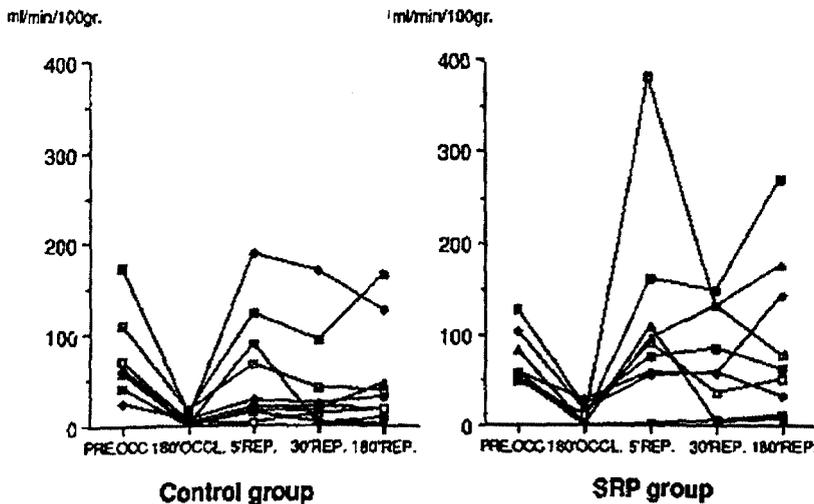


Figura 21. Valores individuais do fluxo sanguíneo no centro da região isquêmica, na região médio-miocárdica. Observa-se uma tendência a fluxos mais baixos no grupo controle após reperfusão (REP), comparado ao grupo da retroperfusão (SRP), sem atingir significado estatístico. Abreviações conforme a Figura 20.

**Achados ecocardiográficos.** Na Tabela 11 encontra-se um resumo dos valores médios da espessura diastólica da parede do ventrículo esquerdo, bem como valores de espessamento sistólico da parede medidos através da ecocardiografia bidimensional. Aos 180 minutos de oclusão arterial coronária, houve uma redução significativa da espessura diastólica da parede e também de seu espessamento sistólico, comparados aos valores pré-oclusão coronária;

este último mostrou valores negativos, indicando afinamento da parede em sístole (-10,6 +/- 4,7 e -19,9 +/- 6,6%, nos grupos controle e de retroperfusão, respectivamente). Aos 15 minutos pós-reperfusão, a espessura diastólica da parede aumentou no grupo controle em relação aos valores encontrados aos 180 minutos de oclusão coronária (+108%), e não se modificou significativamente durante os 180 minutos de reperfusion. Já no grupo de retroperfusão, a espessura diastólica da parede aumentou somente 39% aos 15 minutos de retroperfusão, com acréscimo de 74% aos 15 minutos de reperfusion anterógrada. O aumento da espessura diastólica da parede no grupo de retroperfusão foi estatisticamente menor do que no grupo controle, em todos os momentos após reperfusion (Figura 22). Não se verificou diferenças significativas em termos de espessamento sistólico da parede entre os dois grupos no período pós-reperfusion.

**Tabela 11.** Achados ecocardiográficos

CONT			15' REP	30' REP		60' REP	120' REP	180' REP
SRP	Pre Ocl	180' Ocl	15' SRP	30' SRP	15' REP	30' REP	90' REP	150' REP
<b>EDPV-I, mm</b>								
CONT	7,5±0,3	6,3±0,3	13,1±1,1	13,8±0,9		13,3±0,1	13,8±0,6	13,1±0,7
SRP	8,0±0,5	5,7±0,3	7,9±0,6†	7,8±0,6†	9,9±0,8§	9,8±0,1*	10,0±0,6†	10,2±0,8*
<b>% ES-I</b>								
CONT	38,5±6,9	-10,6±4,7	-9,8±4,0	-10,3±5,5		1,6±3,1	-9,3±3,3	2,8±4,7
SRP	29,9±7,2	-19,9±6,6	-6,6±1,7	-1,9±6,3	-7,1±4,5	3,2±5,8	-9,4±4,3	-7,6±3,1
<b>EDPV-N, mm</b>								
CONT	8,8±0,2	9,1±0,4	10,1±0,3	9,3±0,5		10,0±0,5	10,1±0,6	10,2±0,6
SRP	8,7±0,5	8,9±0,3	8,2±0,3†	8,9±0,4	9,2±0,6	9,4±0,4	9,1±0,4	9,4±0,3
<b>% ES-N</b>								
CONT	28,1±5,8	21,4±2,1	17,9±2,9	29,3±3,8		22,6±5,1	20,2±2,8	15,7±2,0
SRP	20,6±2,3	19,7±3,7	23,5±3,5	19,4±4,2	15,5±4,1	18,7±4,3	17,4±3,2	10,8±2,7

\* p < 0,05 vs Grupo Controle (CONT)

† p < 0,01 vs Controle

§ p < 0,05 vs CONT - 15 min REP

SRP = retroperfusão sincronizada

REP = reperfusão coronária

Ocl = oclusão coronária

EDPV-I = espessura diastólica de parede ventricular, região isquêmica

EDPV-N = espessura diastólica de parede ventricular, região não-isquêmica

%ES-I = espessamento sistólico percentual, região isquêmica

%ES-N = espessamento sistólico percentual, região não-isquêmica

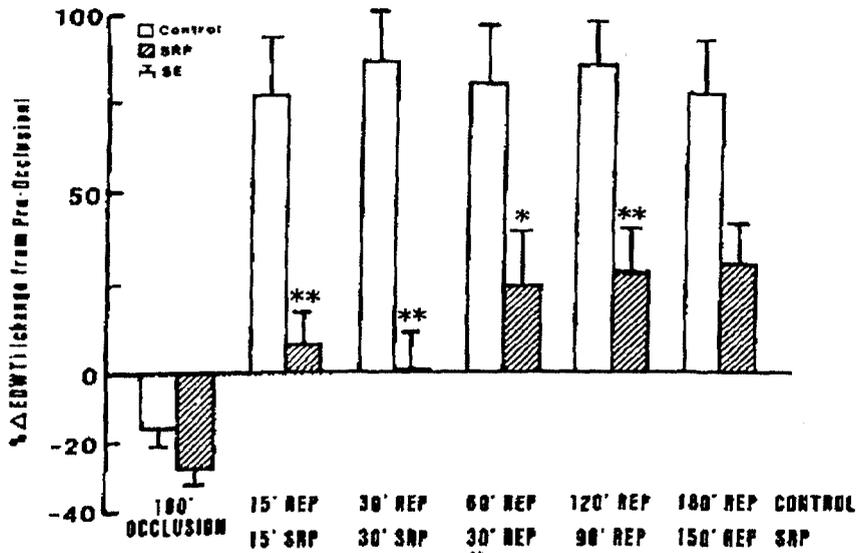


Figura 22. Gráfico em barras do percentual de alteração (\* EDWT) da espessura diastólica da parede ventricular esquerda (em relação aos valores pré-oclusão coronária) durante os períodos de oclusão (occlusion) e reperfusão, no grupo controle (control), e no grupo tratado com retroperfusion (SRP) antes da reperfusão miocárdica (REP). Observa-se redução da espessura diastólica da parede nos dois grupos aos 180 minutos de oclusão; aos 15 minutos de reperfusão já se nota um aumento exagerado no grupo controle, permanecendo nesses níveis durante as 3 horas de reperfusão. Já no grupo tratado este aumento foi muito pequeno. SE = erro standart; \* =  $p < 0,05$  e \*\* =  $p < 0,01$  vs. grupo controle.

**Tamanho do infarto e hemorragia miocárdica.** Estes resultados estão ilustrados na Figura 23. Não houve diferença estatística no tamanho da área de risco entre o grupo controle ( $29,2 \pm 2,2\%$  da massa ventricular esquerda) e o grupo de retroperfusion ( $36,2 \pm 3,0\%$ ). O tamanho do infarto foi menor no grupo da retroperfusion, embora não tenha alcançado diferença estatística importante ( $9,4 \pm 2,8\%$  contra  $15,8 \pm 3,2\%$ , respectivamente). Entretanto, quando se comparou o tamanho do infarto em relação a área de risco, observou-se uma diferença significativa entre os grupos ( $53,7 \pm 9,1\%$  no grupo controle contra  $23,7 \pm 6,6\%$  no grupo da retroperfusion, com valor de  $p < 0,05$ ). Houve uma correlação inversa entre o tamanho do infarto (em termos de seu percentual da área de risco) e fluxo miocárdico transmural medido aos 180 minutos de oclusão coronária, no centro da área isquêmica, em ambos os grupos (Figura 24). As áreas de hemorragia miocárdica (em termos do seu percentual em relação a área infartada) foi estatisticamente menor no grupo da retroperfusion ( $3,1 \pm 1,6\%$  contra  $23,6 \pm 6,2\%$  no grupo controle, com  $p < 0,01$ ). Nenhum dos cães apresentou sinais de hemorragia da parede venosa coronária.

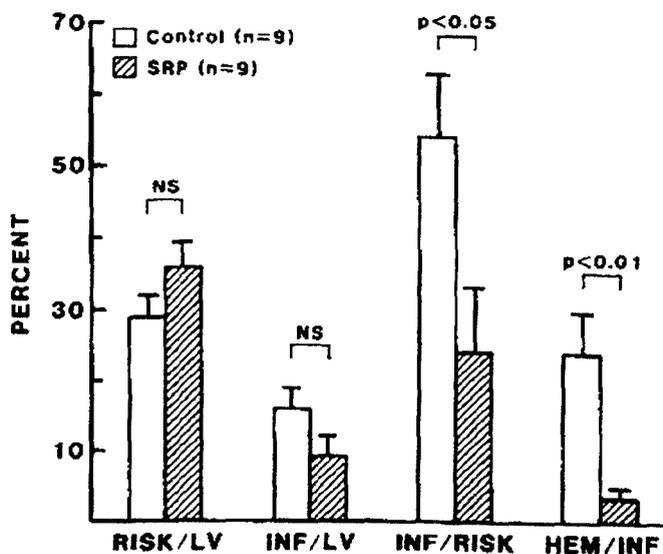


Figura 23. Tamanho das áreas de risco (RISK) e das áreas infartadas (INF) em relação a massa ventricular esquerda (RISK/LV e INF/LV), percentual (percent) da área infartada sobre a área de risco (INF/RISK), e percentual de infarto hemorrágico nas áreas necrosadas (HEM/INF), nos grupos controle (control) e tratado com retroperfusão (SRP). Observa-se uma redução significativa do tamanho do infarto (INF/RISK) e das áreas hemorrágicas (HEM/INF) no grupo da retroperfusão. NS = não significativo estatisticamente.

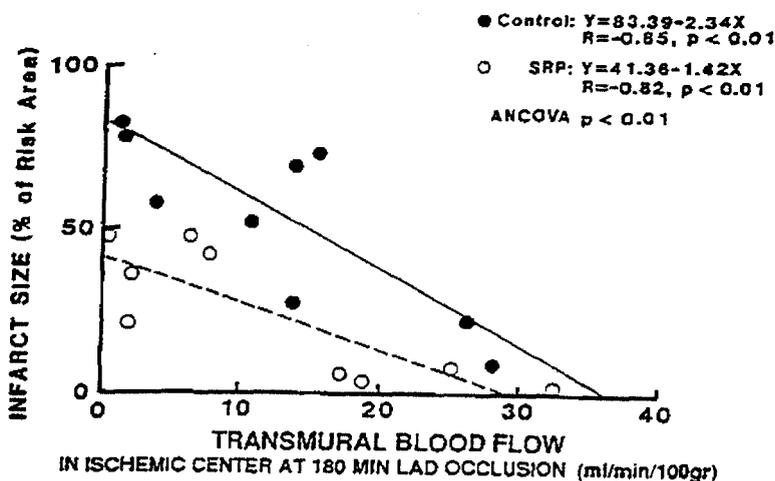


Figura 24. Relação entre o tamanho do infarto (infarct size) expresso como percentual da área de risco (% of risk area) e o fluxo sanguíneo transmural (transmural blood flow) no centro da área isquêmica, aos 180 minutos de oclusão arterial coronária (eixo horizontal). Observa-se uma correlação negativa (com significado estatístico) entre estes dois parâmetros, tanto no grupo controle (control) quanto no grupo da retroperfusão (SRP). Entretanto, os pontos de intercepção das linhas de regressão são significativamente diferentes entre si (por análise de co-variância ou ANCOVA). As equações de regressão estão à direita do gráfico, e também os coeficientes de correlação (R); LAD = artéria descendente anterior.

**Microscopia.** Exames microscópicos das regiões isquêmicas (áreas de risco) demonstraram áreas de hemorragia extensas no grupo controle, comprometendo áreas não-necróticas em 4 dos 9 cães, como está ilustrado na

Figura 25 (um dos casos). Os corações dos cães do grupo controle mostraram necrose em faixas de contração, particularmente na periferia das regiões necrosadas, enquanto que nos cães do grupo da retroperfusão observou-se apenas áreas pequenas deste tipo de necrose, sendo que necrose de coagulação foi o achado predominante.

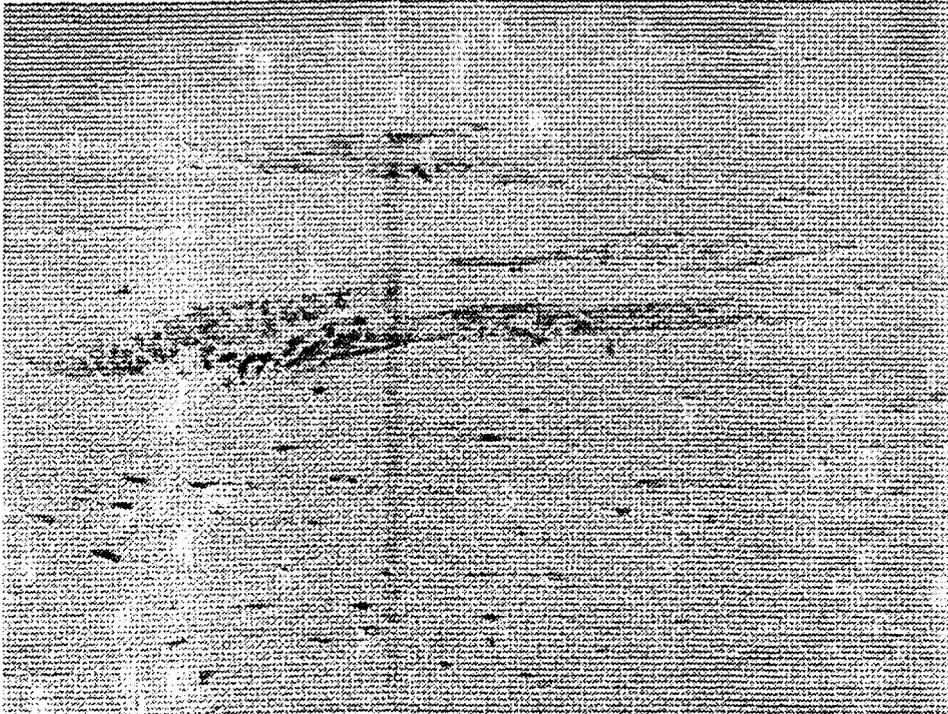


Figura 25. Corte histológico do ventrículo esquerdo isquêmico num cão do grupo controle. Observa-se hemorragias em tecido não-necrosado, com invasão de hemáceas no perimísio, provenientes dos infartos hemorrágicos. Isto foi observado em quatro dos nove cães do grupo controle e em nenhum do grupo tratado com retroperfusão.

## DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou que reperfusão após 3 horas de oclusão arterial coronária resultou em aproximadamente 50% de necrose da área de risco, sendo que 25% desta área total representam áreas de infarto hemorrágico. Retroperfusão de curta duração precedendo a reperfusão reduziu o tamanho do infarto em aproximadamente 50%, com redução de 85% nas áreas de infarto hemorrágico. Como não houve diferenças estatísticas nos valores hemodinâmicos entre os grupos, em qualquer momento durante os experimentos, acreditamos que este tenha sido um efeito benéfico direto da retroperfusão sobre a área isquêmica. Os achados deste estudo indicam, mais

uma vez, que a reperfusão súbita pode ocasionar injúria miocárdica, pelo menos neste modelo experimental utilizado.

Existe muita controvérsia se a reperfusão por si poderia causar necrose de células miocárdicas isquêmicas sem lesão irreversível (89,106,111). Vários mecanismos têm sido propostos para explicar este fenômeno. Dentre eles, a formação de radicais livres em excesso durante a reperfusão, acúmulo de granulócitos e subsequente obliteração da microcirculação, além de acúmulo de cálcio intracelular têm sido implicados como fatores responsáveis por esta provável injúria de reperfusão (104-117). Os radicais livres de oxigênio parecem ter um papel preponderante neste fenômeno, e têm sido estudados numa série de pesquisas utilizando protocolos variados. É certo que estas substâncias são altamente citotóxicas "in vitro" ou em mamíferos de pequeno porte "in vivo", e que são rapidamente formadas durante o processo de reperfusão (120). Isto tem sido documentado em animais de experimentação e no homem (115-116). O que não se sabe ao certo, é se estas substâncias seriam igualmente tóxicas em animais como no homem, particularmente na vigência de isquemia miocárdica e reperfusão. Vários estudos utilizando drogas varredoras destes radicais livres de oxigênio têm demonstrado uma redução no tamanho do infarto (121, 122), mas é difícil provar até que ponto estas substâncias poderiam influenciar as próprias verificações de necrose miocárdica utilizando corantes como o cloreto de trifenil tetrazólio, o mais utilizado para esse fim. No presente estudo, apenas retroperfusão temporária foi utilizada antes da reperfusão, sem interferência de qualquer droga que pudesse afetar as medidas de tamanho do infarto. Se estes achados são verdadeiros, e se a avaliação do tamanho do infarto por este método é de fato precisa, não há dúvidas de que a reperfusão súbita nestes modelos experimentais pode causar necrose celular.

**Possíveis mecanismos de prevenção da injúria de reperfusão pela retroperfusão.** Os mecanismos responsáveis por este efeito da retroperfusão não são bem claros, mas várias possibilidades existem, particularmente o fato de que a retroperfusão proporciona um retorno mais gradual e também

parcial do fluxo miocárdico nas regiões isquêmicas, o que pode ser crucial nos primeiros minutos de reoxigenação tecidual (123-125). Um possível mecanismo também poderia ser a lavagem de produtos tóxicos do miocárdio, como radicais livres de oxigênio, ou mesmo prevenindo o acúmulo de neutrófilos nos capilares, que por sua vez desencadeia o processo de formação destes radicais livres. Embora nenhuma destas substâncias tenham sido medidas no presente estudo, o efeito de lavagem pela retroperfusão já foi demonstrado anteriormente (41). Outros estudos anteriores mostraram uma redução do tamanho do infarto após reperfusão usando oclusão intermitente do seio coronário, um método que, primariamente, aumenta a lavagem de substâncias tóxicas sem aumentar a perfusão do miocárdio com sangue arterializado (31, 126). Resultados similares também têm sido publicados utilizando reperfusão clássica com fluidos acelulares.

O fluxo retrógrado atingido pela retroperfusão chegou a  $118 \pm 19$  ml/min, o equivalente ao fluxo anterógrado coronário normal, para 100g de miocárdio. Como somente 20% a 60% do sangue retroperfundido atinge o miocárdio isquêmico (118,119,129), pode-se dizer que a retroperfusão é uma forma de reperfusão parcial. Chang e colaboradores usaram angiografia digital com subtração para estimar o fluxo miocárdico retrógrado com o uso da retroperfusão, e chegaram a conclusão de que a retroperfusão resulta num fluxo aproximado de 20 a 30% do fluxo coronário anterógrado normal (41). Um outro estudo usando xenônio 133 (130) demonstrou que este percentual seria de apenas 10%, embora nestes estudos o sistema de retroperfusão utilizado tenha sido mais rudimentar. Uma série de estudos anteriores têm demonstrado que a reperfusão súbita e total do miocárdio isquêmico está associada a edema miocárdico, hemorragia miocárdica e possivelmente aceleração do processo isquêmico. Por outro lado, reperfusão gradual ou controlada parece diminuir estas complicações em animais de experimentação, confirmando a redução do fenômeno de não-refluxo (123-125).

A concentração de oxigênio no sangue reperfundido também parece ter implicações com os fenômenos associados a reperfusão, particularmente relacionado a formação abundante de radicais livres de oxigênio no miocárdio isquêmico (114-117). Durante a retroperfusão, e como já demonstrado anteriormente (32), a concentração de oxigênio é mais baixa, possivelmente devido a sua utilização pelas células durante o processo de reperfusão retrógrada. Além disso, durante a retroperfusão há uma mistura do sangue arterial retroperfundido com o sangue venoso que normalmente drena pelas veias coronárias, resultando numa pressão parcial de oxigênio também mais baixa que a do sangue arterial. Com isto, haveria formação de uma menor quantidade de radicais livres de oxigênio, e, potencialmente, menos dano celular.

Outro mecanismo possível relacionado ao efeito benéfico da retroperfusão neste estudo é a expansão do sistema venocapilar. Isto poderia evitar o entupimento da microcirculação por neutrófilos ativados pelo processo de reperfusão (117), o que por sua vez reduziria a produção de radicais livres normalmente gerados por este fenômeno. O fato de termos observado uma queda do fluxo miocárdico durante a reperfusão no grupo controle favorece esta hipótese. Redução do edema miocárdico também poderia ser responsável pelos efeitos benéficos da retroperfusão. Edema celular e intersticial ocorreu minutos após reperfusão do miocárdio isquêmico, e tem sido correlacionados com o fenômeno de não-refluxo (66) e com a extensão transmural da necrose (78). Nos cães tratados com retroperfusão neste estudo, a espessura diastólica da parede aumentou muito menos do que no grupo controle, uma evidência indireta de um menor grau de edema miocárdico no grupo da retroperfusão. Além disto, no grupo da retroperfusão, o grau de hemorragias miocárdicas foi muito menor que no grupo controle, o que poderia ter contribuído para um edema menos intenso neste grupo, e conseqüentemente melhor fluxo capilar e menos lesão celular.

## LIMITAÇÕES DO ESTUDO.

Uma das limitações deste estudo é o curto período de observação após reperfusão, que foi de apenas 3 horas. Alguns pesquisadores têm apontado que a chamada injúria de reperfusão é apenas um processo de aceleração da morte celular de miócitos já irreversivelmente lesados, e que o tamanho final do infarto não seria afetado pela reperfusão (131). Outra limitação estaria relacionada ao fato de que o grupo controle foi submetido a 3 horas de oclusão coronária e 3 horas de reperfusão, enquanto que no grupo tratado a oclusão coronária foi de 3,5 horas (com a retroperfusão nos primeiros 30 minutos deste período), seguido de 2,5 horas de reperfusão. Porém, se considerarmos que a retroperfusão seria uma forma de reperfusão parcial, o período de "reperfusão" teria sido igual entre os grupos. Medidas de fluxo miocárdico regional com microesferas radioativas feitas neste estudo, durante a retroperfusão, podem não ser bem acuradas, já que as microesferas poderiam ser "lavadas" pelo próprio fluxo da retroperfusão, subestimando o fluxo miocárdico.

Em conclusão, este estudo experimental demonstra que um período curto de retroperfusão miocárdica, antes da reperfusão anterógrada, reduz significativamente o tamanho do infarto, provavelmente por reduzir o grau de edema e hemorragia miocárdicos, além de uma possível diminuição da formação de radicais livres de oxigênio. O estudo também sugere que reperfusão súbita e total pode causar injúria celular, a qual poderia ser modificada pelo modo de restauração do fluxo miocárdico para a região isquêmica.

## **5.5 RETROPERFUSÃO MIOCÁRDICA SINCRONIZADA ASSOCIADA À RETROINFUSÃO DE DROGAS CARDIOATIVAS PARA A PROTEÇÃO DO MIOCÁRDIO ISQUÊMICO.**

A retroperfusão miocárdica utilizada durante a isquemia aguda do miocárdio pode ser benéfica por vários mecanismos: primeiro por aumentar o fluxo miocárdico regional nas regiões isquêmicas, e segundo, conforme apresentado no estudo anterior (85), pode reduzir o grau de edema e hemorragia miocárdicas, culminando com uma redução do tamanho do infarto quando usada antes da reperfusão anterógrada. Este é o caminho mais racional e definitivo para restabelecer o fluxo miocárdico nas regiões isquêmicas, mas apresenta problemas como aqueles associados ao fenômeno de não-refluxo (66).

A racionalidade no uso de retroinfusão de drogas cardioprotetoras associadas à reperfusão ou a retroperfusão de sangue arterial, seria para potencializar os efeitos benéficos destas duas modalidades de tratamento da isquemia miocárdica aguda. Nos protocolos seguintes, vamos apresentar estudos que exploram este aspecto, em modelos experimentais de infarto agudo do miocárdio, com o objetivo de testar as hipóteses acima explicitadas.

### 5.5.1 RETROPERFUSÃO MIOCÁRDICA SINCRONIZADA ASSOCIADA À RETROINFUSÃO DE PROSTAGLANDINA E-1 DURANTE OCLUSÃO ARTERIAL CORONÁRIA AGUDA: EFEITOS NA FUNÇÃO MIOCÁRDICA REGIONAL E NO TAMANHO DO INFARTO (PROTOCOLO 5).

A prostaglandina E-1 parece exercer um efeito benéfico direto no miocárdio isquêmico, primariamente pelos seus efeitos vasodilatador e anti-adesivo plaquetário (132-135). A retroperfusão, por outro lado, aumenta o fluxo miocárdico na região isquêmica através das veias coronárias. Neste estudo, nós examinamos a eficácia do efeito combinado da retroperfusão de sangue arterial associada a retroinfusão de prostaglandina E-1 em cães submetidos a oclusão aguda da artéria coronária. Nossa hipótese foi de que a associação do efeito vasodilatador da prostaglandina junto com o aumento da oferta de sangue arterial através da retroperfusão resultaria na melhora da função miocárdica e na redução do tamanho do infarto.

#### MÉTODOS.

Vinte e nove cães pesando 20 a 30 kg foram premedicados com sulfato de morfina na dose de 1,5 mg/kg de peso, e 30 minutos após anestesiados com pentobarbital sódico (dose de 25 mg/kg). Após intubação orotraqueal, a ventilação foi mantida com um respirador tipo Harvard, com uma mistura de 95% de oxigênio e 5% de dióxido de carbono. Heparina foi administrada antes da instrumentação na dose de 10.000 U IV, seguida de 3000 U a cada 2 horas. Uma infusão constante de solução salina isotônica foi mantida por via endovenosa a aproximadamente 3 ml por minuto durante as experiências. Sob controle fluoroscópico, um catéter número 8F foi introduzido pela artéria femoral esquerda e colocado no arco da aorta para medidas de pressão arterial, e um segundo catéter foi introduzido pela artéria femoral direita e posicionado na cavidade ventricular esquerda, para verificação das pressões de pico e diastólica final do ventrículo esquerdo. Além disso, um catéter de Swan-Ganz número 7F foi introduzido pela veia femoral esquerda e posicionado na artéria pulmonar, para medidas de débito

cardíaco por termodiluição (Cardiac Output Computer, model 9520, Edwards Laboratories). As pressões na aorta e ventrículo esquerdo foram medidas com transdutores de pressão tipo Statham P23Db, e monitorizadas com um polígrafo fisiológico (modelo VR12, Electronics for Medicine). A primeira derivada da pressão ventricular esquerda ( $dP/dt$ ) foi obtida por diferenciação elétrica. O Eletrocardiograma também foi monitorizado numa derivação precordial equivalente a V4. Amostras de sangue arterial foram obtidas a intervalos regulares para verificação de pH e gases sanguíneos.

**Análise da função ventricular esquerda regional.** Ecocardiografia bidimensional foi utilizada para medidas de função miocárdica regional (Advanced Technology Laboratories, modelo Mark III), usando métodos já descritos (62). Imagens foram obtidas em 5 planos transversais (eixo curto), da base ao ápice do ventrículo esquerdo, e também um corte longitudinal do mesmo. Cada corte transversal em eixo curto foi subdividido em 8 segmentos distintos, usando um eixo fixo de referência, conforme descrito anteriormente (43). Em cada um dos 5 cortes transversais, foram calculados o encurtamento sistólico da área seccional, e também o mesmo índice foi utilizado para cálculo da contração nas regiões isquêmicas e não-isquêmicas. Assim, na região isquêmica foram calculadas as médias de segmentos com menos de 20% de contração, e dois segmentos da parede oposta à parede isquêmica foram tomados para caracterizar a contração das regiões não-isquêmicas. Os volumes diastólico e sistólico final do ventrículo esquerdo foram estimados conforme método anteriormente descrito (62), e a fração de ejeção calculada.

**Patologia.** Após o término dos experimentos, os corações foram fatiados em cortes transversais (eixo curto) de 1 cm de espessura, do ápice a base do ventrículo esquerdo, paralelos ao sulco atrioventricular. Cortes alternados foram incubados em cloreto de trifetil tetrazólio (o 1º, 3º e 5º cortes) ou em solução de Carnoy (o 2º e o 4º cortes), a qual preserva o glicogênio tecidual (136). Após fixação em solução de Carnoy, o tecido foi corado com ácido periódico de Schiff (PAS) para posterior planimetria das áreas isquêmicas (áreas depletadas de glicogênio, as quais apresentam

descoloração). Com a planimetria das áreas de necrose sendo feitas em superfícies adjacentes às áreas de isquemia, pode-se reconstruir a área isquêmica total do ventrículo esquerdo, como também a área infartada (44).

**Retroperfusão sincronizada.** O sistema de retroperfusão diastólica sincronizada, já descrito anteriormente, foi usado só ou associado a retroinfusão de prostaglandina E-1. O sangue arterial foi obtido através de um catéter inserido na artéria braquial direita e conectado ao sistema; o catéter de retroperfusão foi posicionado na veia cardíaca maior, adjacente ao miocárdio perfundido pela artéria coronária descendente anterior. O fluxo de retroperfusão utilizado neste estudo variou de 40 a 70 ml/min.

**Protocolo experimental.** A preparação do animal foi estabilizada por um período de aproximadamente 30 minutos após o término da instrumentação. A artéria coronária foi então ocluída por um catéter balão número 4F (Corday-Lang, Edwards Laboratories, Santa Ana, California), próprio para oclusão arterial; este catéter possui 2 lúmens, sendo um para insuflar o balonete e o outro para medir a pressão intra-arterial distal ao ponto de oclusão. O balonete, que está a 1 cm da ponta do catéter, foi posicionado imediatamente distal ao primeiro ramo diagonal da artéria descendente anterior, para posterior oclusão da artéria. A oclusão coronária foi mantida por um período de 3 horas em todos os cães. No grupo A, prostaglandina foi infundida dos 30 aos 180 minutos de oclusão, numa dose de 25 ng/kg/min por via intravenosa central (catéter próximo ao átrio direito), usando uma bomba de infusão tipo Harvard (modelo 600, Harvard Apparatus Co, Denver, Colorado). No grupo B, além da infusão de prostaglandina na mesma dose, a retroperfusão foi iniciada simultaneamente. No grupo C não houve nenhum tratamento. Medidas hemodinâmicas, ecocardiográficas e eletrocardiográficas foram obtidas e registradas aos 10 minutos pré-oclusão, e aos 30 e 180 minutos após oclusão arterial coronária.

**Análise estatística.** A análise estatística dos dados foi feita com análise de variância tipo Kruskal-Wallis. Quando este teste indicou uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p < 0,05$ ), o teste de Fisher para

múltiplas comparações foi usado, para determinar qual dos grupos foi diferente em relação aos outros dois grupos. Os resultados estão expressos em valores médios e erro padrão.

## RESULTADOS

Vinte e nove cães sobreviveram às 3 horas de oclusão coronária. Os cães que desenvolveram fibrilação ventricular nos primeiros 30 minutos de oclusão e antes da randomização foram excluídos do estudo. Não houve fibrilação ventricular ou mortes entre o período de 30 e 180 minutos de oclusão coronária. Dos vinte e nove cães que sobreviveram, 10 foram alocados para o grupo A, 10 para o grupo B e 9 para o grupo C.

**Achados hemodinâmicos.** Em todos os grupos, a oclusão coronária causou um aumento da frequência cardíaca e da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo, bem como um aumento da resistência vascular sistêmica e queda do débito cardíaco e da  $dP/dt$  máxima. A pressão arterial sistólica se alterou muito pouco durante os experimentos. O débito cardíaco diminuiu ainda mais entre 30 e 180 minutos de oclusão nos grupos B e C, mas foi mantido no grupo A (grupo da prostaglandina). A pressão diastólica final do ventrículo esquerdo permaneceu elevada no grupo controle até o final dos experimentos, enquanto que nos grupos A e B houve uma diminuição significativa aos 180 minutos de oclusão coronária. Um pequeno, mas persistente aumento da  $dP/dt$  máxima ocorreu no grupo A logo após o início da infusão de prostaglandina, e persistiu até o final dos experimentos, enquanto que nos grupos B e C não houve alteração significativa entre 30 e 180 minutos de oclusão coronária. Estes resultados estão resumidos na Tabela 12.

**Tabela 12.** Achados hemodinâmicos durante 3 horas de oclusão arterial coronária nos três grupos de estudo

	FC	PS-VE	Pd2-VE	dP/dt max	IC	RVS
<b>Pre-oclusão</b>						
Grupo A	81±5	120±4	4,3±0,9	1433±96	2,84±0,19	2561±222
Grupo B	81±6	126±6	3,2±0,6	1672±138	2,97±0,26	2735±367
Grupo C	102±8	112±5	8,6±0,8	1671±172	2,79±0,47	2667±290
<b>30 minutos de oclusão</b>						
Grupo A	98±4*	118±4	10,9±1,9*	1227±58*	2,26±0,12*	3157±290*
Grupo B	91±8	126±4	7,9±1,3*	1564±83	2,45±0,26*	2870±263
Grupo C	109±7	114±5	14,6±1,6*	1296±169*	2,35±0,23*	3203±337*
<b>3 horas de oclusão</b>						
Grupo A	124±5*†	111±3	0,85±0,9*†	1449±79†	2,30±0,24*	4226±346*†
Grupo B	126±4*†	123±3	0,92±0,5*†	1597±94	2,03±0,13*†	3636±262*†
Grupo C	125±9*†	118±3	15,3±2,1*	1238±203*	1,78±0,09*†	4226±346*†

\* p &lt; 0,05 vs pré-oclusão

† p &lt; 0,05 vs 30 minutos de oclusão

FC = frequência cardíaca

PS-VE = pressão sistólica do ventrículo esquerdo

Pd2-VE = pressão diastólica final do ventrículo esquerdo

IC = índice cardíaco (l/min/m<sup>2</sup>)RVS = resistência vascular sistêmica (din.s.cm<sup>-5</sup>)

**Alterações eletrocardiográficas.** Todos os cães mostraram uma elevação do segmento ST nos primeiros 30 minutos de oclusão arterial coronária, mas não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos neste período.

**Análise ecocardiográfica da função ventricular esquerda.** Estes resultados estão ilustrados na Figura 26 e na Tabela 13. Oclusão da artéria coronária causou uma redução severa nos índices de contração regional nas áreas isquêmicas, indicando isquemia miocárdica profunda nestas áreas. Nos cortes ao nível do ventrículo esquerdo baixo (próximo ao ápice), o encurtamento da área na região isquêmica diminuiu de 53,0 +/- 2,4 para 1,8 +/- 3,6% no grupo A, de 53,3 +/- 4,1% para 5,6 +/- 6,0% no grupo B, e de 54,3 +/- 2,3 % para 2,3 +/- 12,6% no grupo C, aos 30 minutos de oclusão arterial coronária. Pequenas alterações foram observadas nas regiões não-isquêmicas. No grupo controle (grupo C), houve uma deterioração funcional ainda maior aos 180 minutos de oclusão. Já no grupo B (retroperfusão) observou-se uma melhora na contração da região isquêmica nos cortes ao nível dos músculos papilares (meio do ventrículo esquerdo), onde a contração na região isquêmica melhorou de 13,4 +/- 3,9 para 32,1 +/- 10,4% (p<0,05); entretanto, não se observou melhora da contração no corte transversal mais próximo ao ápice neste grupo. Por outro lado, no grupo da prostaglandina associada a retroperfusão (grupo A),

observou-se melhora da contração mesmo nestas regiões mais afetadas pela isquemia; assim, nos cortes ao nível do ventrículo esquerdo baixo, o encurtamento da área neste grupo aumentou de  $1,8 \pm 3,6\%$  aos 30 minutos de oclusão para  $29,4 \pm 5,6\%$  aos 180 minutos de oclusão, e portanto 150 minutos de tratamento (veja na tabela 13).

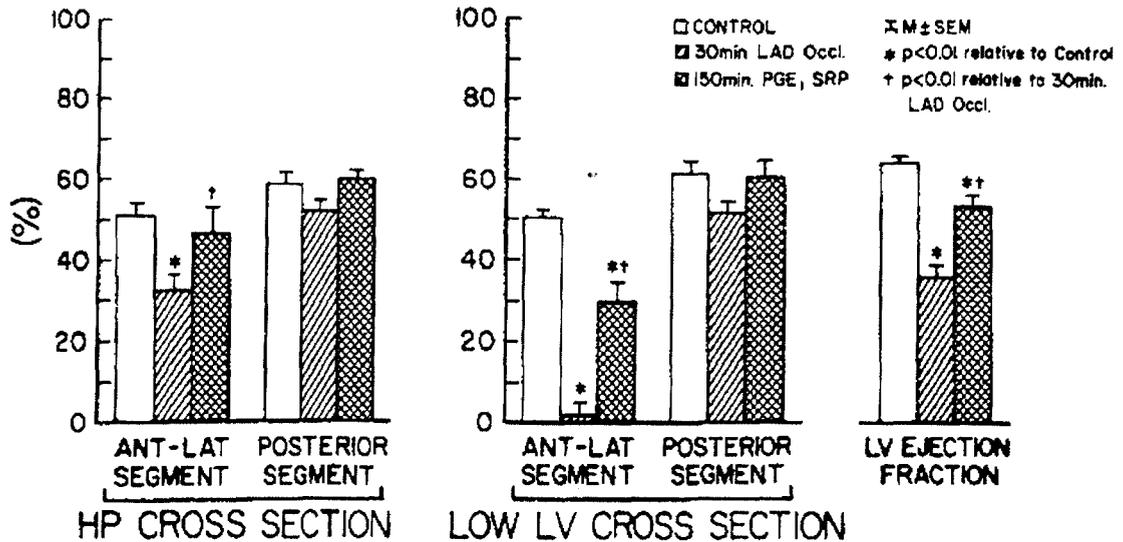


Figura 26. Função ventricular esquerda (LV) global (fração de ejeção = ejection fraction) e segmentar (segment) em cães tratados com retroperfusão sincronizada (SRP) e retroinfusão concomitante de prostaglandina E-1 (PGE-1), iniciados após 30 minutos de oclusão da artéria descendente anterior (LAD Occl). Os valores foram obtidos através de ecocardiogramas em eixo curto do ventrículo esquerdo ao nível das cordas tendíneas (HP cross section), e portanto um pouco acima da região mais isquêmica, e também próximo ao ápice do ventrículo (LOW LV cross section), na região mais isquêmica. As barras mostram os valores percentuais da alteração fracional da área (eixo vertical) na situação basal (control) e aos 30 e 180 minutos de oclusão coronária (2 gráficos à esquerda). Os valores da fração de ejeção global do ventrículo esquerdo estão no gráfico à direita. Ao contrário do grupo controle (veja Tabela 13), observa-se melhora na função ventricular esquerda regional e global com retroperfusão e infusão retrógrada de PGE-1. Ant = anterior; Lat = lateral; M = valores médios; SEM = erro standard

**Tabela 13.** Achados ecocardiográficos no eixo curto do ventrículo esquerdo baixo (próximo ao ápice)

	AFA Seccional (%)	AFA Segmentar (%)	
		Região Isquêmica	Região Não-Isquêmica
<b>Pré-Oclusão</b>			
Grupo A	57,1±1,6	53,0±2,4	61,4±3,4
Grupo B	57,2±1,9	53,3±4,1	60,3±2,0
Grupo C	55,4±1,1	54,3±2,3	52,3±4,1
<b>30 min de oclusão</b>			
Grupo A	22,9±1,5*	1,8±3,6*	51,2±2,9
Grupo B	27,8±2,9*	5,6±6,0*	58,0±3,2
Grupo C	16,3±2,7*	12,6±6,1*	41,3±3,9*
<b>3 horas de oclusão</b>			
Grupo A	41,2±4,0*†	29,4±5,6*†	60,1±4,2
Grupo B	31,9±1,9*†	0,9±5,7*	57,7±4,4
Grupo C	10,0±3,3*	4,1±6,9*	52,7±3,5*†

\* p &lt; 0,05 vs pré-oclusão

† p &lt; 0,05 vs 30 min de oclusão

AFA = alteração fracional da área

**Tamanho do infarto e das áreas isquêmicas.** Comparadas ao grupo controle (grupo C), os cães submetidos a retroperfusão com prostaglandina E-1 (grupo A) tiveram infartos significativamente menores (9,3 +/- 1,9 contra 3,7 +/- 1,3%, p < 0,05). O exame macroscópico dos cortes ventriculares mostraram áreas de necrose subendocárdica e freqüentemente não-confluentes nos cães tratados com retroperfusão e prostaglandina, enquanto que nos cães não tratados o padrão mais comumente encontrado foi de necrose confluyente, estendendo-se até a região subepicárdica. As áreas isquêmicas avaliadas pela extensão das áreas de depleção de glicogênio foram de 20,5 +/- 3,8 no grupo A, contra 44,0 +/- 8,7% no grupo C (p < 0,05), medidas estas feitas no corte transversal médio-ventricular, ao nível dos músculos papilares (Figura 27).

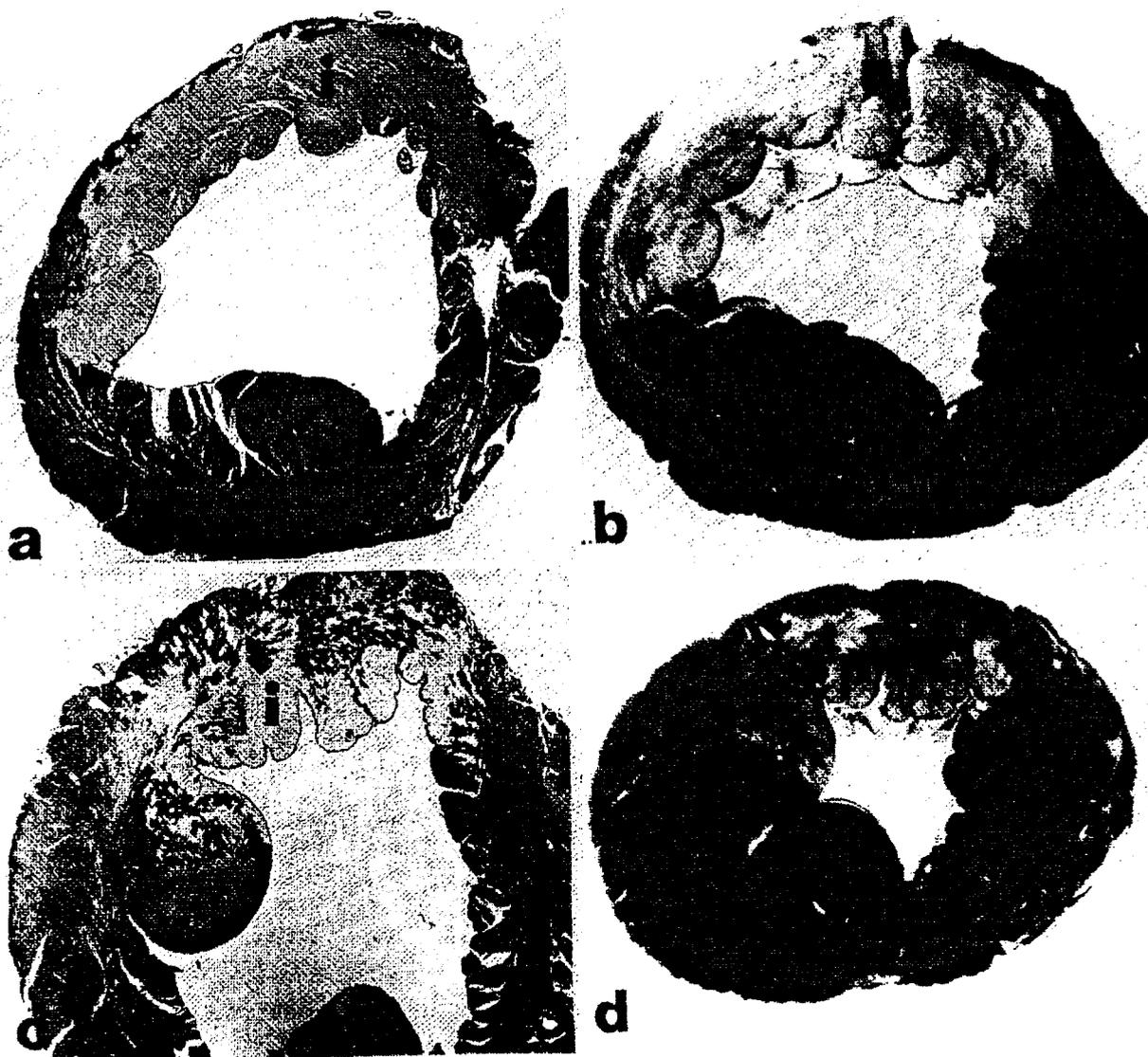


Figura 27. Exemplos de achados morfológicos num cão do grupo controle (a, b) e num cão do grupo tratado (c, d). Os cortes são do ventrículo esquerdo médio, em superfícies adjacentes. As figuras da esquerda mostram cortes histológicos gigantes corados com PAS, mostrando as áreas isquêmicas (i) não coradas para glicogênio; os cortes da direita mostram fatias do miocárdio coradas com cloreto de trifênil tetrazólio, mostrando as áreas não-coradas (pálidas) ou necrosadas (n). No cão do grupo controle (Figuras a, b) a extensão da necrose é similar a extensão da área isquêmica, evidenciando necrose de quase toda a área isquêmica ao longo das 3 horas de oclusão coronária. Já no grupo tratado (Figuras c, d) a área isquêmica não é uniforme, é menor, e a necrose miocárdica (Figura d) é subendocárdica apenas, e não transmural como no cão não-tratado (Figura b).

## DISCUSSÃO

Após oclusão aguda da artéria descendente anterior, a disfunção contrátil regional do ventrículo foi rápida e severa, documentada pela ecocardiografia bidimensional. Esta zona de disfunção contrátil severa correspondeu a zona depleta de glicogênio tecidual no miocárdio, o que já havia sido documentado anteriormente (137). O restabelecimento do fluxo

coronário e da perfusão miocárdica é o tratamento atual de escolha para pacientes com infarto agudo do miocárdio. Não se sabe ao certo qual a melhor forma de se restabelecer este fluxo, mas é certo que ele deve ser sustentado. A retroperfusão proporciona um retorno parcial da perfusão miocárdica de forma sustentada; por outro lado, a prostaglandina E-1, além do seu efeito vasodilatador coronário, tem um efeito antiplaquetário importante, o que facilita a estabilização da trombose coronária, o principal mecanismo envolvido no processo de oclusão arterial coronária aguda. No presente estudo, nós demonstramos uma melhora significativa na função contrátil das regiões isquêmicas com retroperfusão de sangue arterial associado a retroinfusão de prostaglandina E-1, e, principalmente, uma redução importante na extensão das áreas isquêmicas e infartadas. Ao contrário, nos cães não tratados, houve deterioração progressiva da função ventricular esquerda, e áreas de necrose mais extensas. Os mecanismos associados a estas melhoras poderiam ser vários. Primeiro, a prostaglandina E-1 diminui a pré-carga, o que foi documentado neste estudo pela redução da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo; em segundo lugar, a prostaglandina E-1 é um vasodilatador coronário por ação direta na musculatura lisa vascular. Os efeitos da prostaglandina E-1 na preservação do miocárdio agudamente isquêmico têm sido estudados em diferentes espécies animais. Num estudo onde a droga foi infundida em gatos com oclusão arterial coronária, demonstrou-se uma redução significativa no tamanho do infarto, com melhora nos parâmetros hemodinâmicos (138). Isto tem estimulado a investigação dos efeitos da prostaglandina E-1 em pacientes com infarto agudo do miocárdio e angina instável (139). O potencial do uso da associação de retroperfusão de sangue arterial com prostaglandina E-1 transcende o uso desta droga em particular em casos de isquemia miocárdica aguda (140). Este estudo sugere que o método utilizado, através de retroperfusão com drogas protetoras do miocárdio isquêmico, pode ser uma alternativa terapêutica importante para casos específicos de pacientes com isquemia aguda do miocárdio.

### 5.5.2 LISE RETRÓGRADA DE TROMBO ARTERIAL CORONÁRIO ATRAVÉS DA ADMINISTRAÇÃO DE ESTREPTOQUINASE PELO SEIO CORONÁRIO (PROTOCOLO 6).

O infarto agudo do miocárdio resulta, na vasta maioria dos casos, de uma trombose intracoronária (141). Isto estimulou uma série enorme de estudos utilizando infusão intra-arterial coronária(142-145) e sistêmica (146-148) de agentes trombolíticos em pacientes com infarto agudo do miocárdio. Se não houver contra-indicação ao uso de trombolítico intravenoso, e se o tratamento puder ser administrado nas primeiras horas após a oclusão arterial coronária, os benefícios do tratamento parecem ser indiscutíveis. O que não se sabe ao certo é como a localização e comprimento do trombo (ou sua massa), além do estado e integridade do sistema de coagulação e as forças que nele interagem, interfeririam no processo de trombólise induzido pelo uso sistêmico de trombolíticos. No presente estudo, decidimos explorar a possibilidade de trombólise arterial coronária por via retrógrada, utilizando doses menores de um agente trombolítico administrado concomitantemente à retroperfusão de sangue arterial. Nossa hipótese foi de que a retroperfusão protegeria o miocárdio isquêmico nos primeiros e críticos minutos pós-infarto, tempo em que o agente trombolítico agiria para dissolver o trombo. Além disto, esta estratégia permitiria uma continuidade do tratamento através da retroperfusão nas primeiras horas após reperfusão, num momento crítico em que ocorre disfunção ventricular importante associada ao fenômeno de não-refluxo. Neste estudo, nós comparamos esta estratégia com o uso sistêmico, intravenoso de estreptoquinase em cães submetidos a oclusão trombótica da artéria descendente anterior.

### MÉTODOS

O estudo foi realizado em 15 cães com tórax fechado, com peso de 25 a 30 Kg. Os animais foram premedicados com sulfato de morfina (1,2 mg/Kg, intramuscular) e 30 minutos depois anestesiados com pentobarbital sódico (30 mg/Kg, intravenoso). A respiração foi controlada com um respirador tipo

Harvard, após intubação orotraqueal. A pressão aórtica foi monitorizada através de um catéter 8F introduzido pela artéria femoral esquerda. Angiografia coronária esquerda foi feita através da artéria carótida esquerda para definir a anatomia da artéria descendente anterior. Usando um método anteriormente descrito (149), um espiral curto de cobre (de 8 a 10 mm de comprimento e 2 a 3 mm de diâmetro externo) foi posicionado na artéria descendente anterior, sob controle fluoroscópico; este espiral é introduzido sobre um guia metálico inserido por dentro de um catéter guia número 7F. A posição do espiral e sua estabilidade na artéria descendente anterior proximal foram verificados com angiografia contrastada usando renografina 76, repetida a cada 5 minutos. Após verificação de trombose e oclusão completa de artéria coronária, o que ocorreu entre 10 e 60 minutos (média de 38 minutos) após colocação do espiral de cobre, heparina foi administrada em bolo na dose de 5000 U, por via intravenosa. A preparação então foi estabilizada por um período de 15 minutos e a angiografia coronária repetida para confirmar a oclusão completa da artéria descendente anterior.

Administração retrógrada de estreptoquinase. Em 10 cães com tórax fechado, a estreptoquinase foi administrada pelas veias coronárias. Em 5 cães (grupo A), um catéter de duplo lúmen com balonete distal foi introduzido pela veia jugular e posicionado na veia cardíaca maior, próximo a veia interventricular anterior. A insuflação do balonete por um dos lúmens do catéter permite a oclusão da veia cardíaca maior, enquanto a droga (estreptoquinase, 12500 U diluída em 50 ml de solução de glicose a 5%) era administrada manualmente com uma seringa. Esta dose foi repetida a intervalos de 10 minutos, sempre precedida por angiografia coronária para verificar uma possível lise do trombo formado no espiral de cobre. Estas infusões foram iniciadas 60 minutos após confirmação de oclusão arterial coronária total. Em outros 5 cães (grupo B), estreptoquinase foi infundida concomitantemente com retroperfusão de sangue arterial, estabelecida de acordo com os métodos descritos nos protocolos anteriores. A droga foi infundida com uma bomba infusora (tipo Harvard modelo 600-900) conectada na parte extracorpórea do circuito da retroperfusão, numa dose de 42

U/kg/min. Angiografia coronária foi repetida a cada 5 minutos para verificação da patencia arterial. Para efeito de comparação, em 5 outros cães a estreptoquinase foi administrada por veia sistêmica, iniciando a infusão também aos 60 minutos pós-oclusão trombótica da artéria coronária (grupo C). A dose utilizada foi de 2000 UI /min., por 120 minutos. Os cães neste grupo foram instrumentados da mesma forma que nos demais grupos.

Análise dos resultados. A análise estatística dos resultados foi feita usando o teste t de Student, para dados não-pareados, e os resultados estão apresentados em valores médios com o respectivo desvio padrão.

## RESULTADOS

A Figura 28 mostra um caso típico de trombólise por via retrógrada num cão do grupo B, ou seja, submetido a retroinfusão de estreptoquinase junto com retroperfusão de sangue arterial. Observa-se primeiro um fluxo coronário normal na artéria descendente anterior, após inserção do espiral de cobre e antes da formação de trombose sobre o mesmo; em seguida, observa-se obstrução total do fluxo por oclusão trombótica da artéria; a seguir, ocorre lise parcial do trombo, com fluxo coronário lento, e aos 50 minutos após início da retroinfusão de estreptoquinase nota-se fluxo coronário normal, demonstrado através da angiografia seletiva.

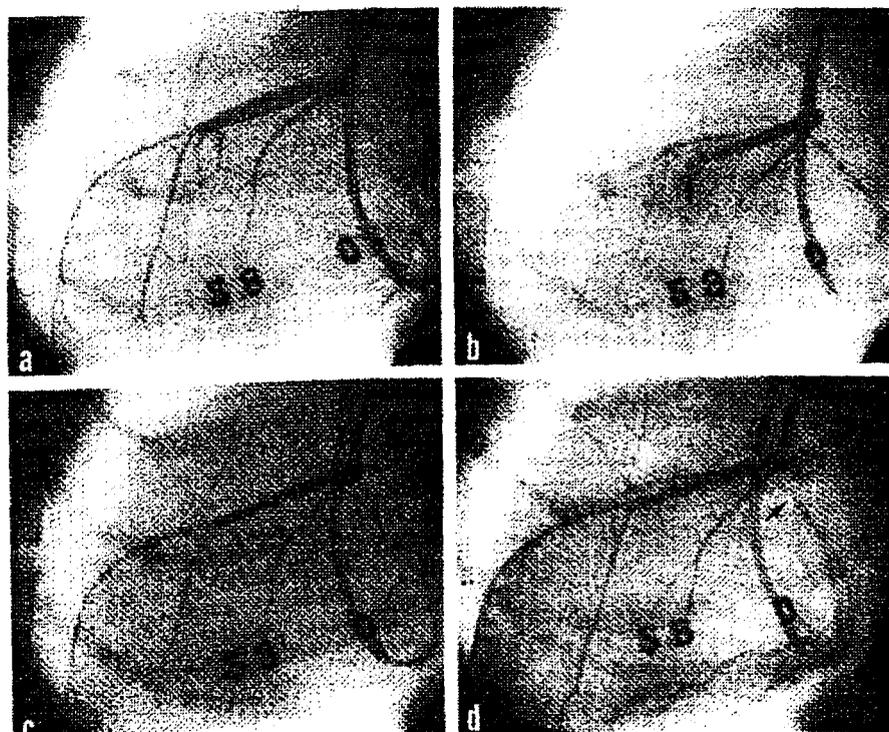


Figura 28. Documentação angiográfica de trombólise com retroinfusão de estreptoquinase durante retroperfusão. a) angiograma seletivo da artéria descendente anterior (já com o espiral de cobre no seu interior) em situação de controle; b) obstrução trombótica total da artéria (seta) aproximadamente 25 minutos após inserção do espiral; c) trombólise parcial observada 30 minutos após início da retroinfusão de estreptoquinase; d) trombólise completa 50 minutos após início da retroinfusão do trombolítico. A seta indica a ponta do catéter de retroperfusão posicionado na veia cardíaca maior.

**Incidência e rapidez da trombólise.** Estes resultados estão ilustrados graficamente nas Figuras 29 e 30. Trombólise ocorreu eventualmente em todos os 15 cães tratados com estreptoquinase; entretanto, nos cães submetidos a infusão de estreptoquinase retrogradamente (grupos A e B), o tempo de recanalização variou de 27 a 75 minutos, com uma média de  $50,5 \pm 13,2$  minutos, muito inferior ao grupo C (estreptoquinase endovenosa), onde este tempo variou entre 65 e 200 minutos, com um tempo médio de  $131,6 \pm 60,6$  minutos. Esta diferença foi estatisticamente significativa, com um valor de  $p < 0,001$ . A Figura 29 mostra os valores individuais e médios em cada grupo, indicando uma variabilidade bem menor nos tempos de recanalização para o grupo A (grupo da retroperfusão sincronizada com retroinfusão de estreptoquinase), e uma variabilidade grande para o grupo C (infusão endovenosa de estreptoquinase).

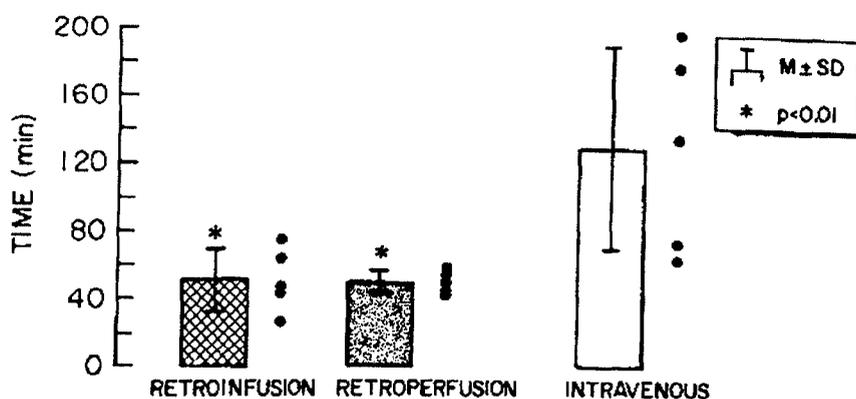


Figura 29. Tempo (time) de recanalização completa da artéria descendente anterior nos cães dos três grupos estudados: retroinfusão manual de estreptoquinase (retroinfusion), retroinfusão de estreptoquinase combinada com retroperusão de sangue arterial (retroperfusion) e infusão endovenosa sistêmica (intravenous) da droga. Observe o tempo de recanalização mais longo com o uso intravenoso, e menor variabilidade e tempo mais curto de recanalização no grupo da retroperusão.

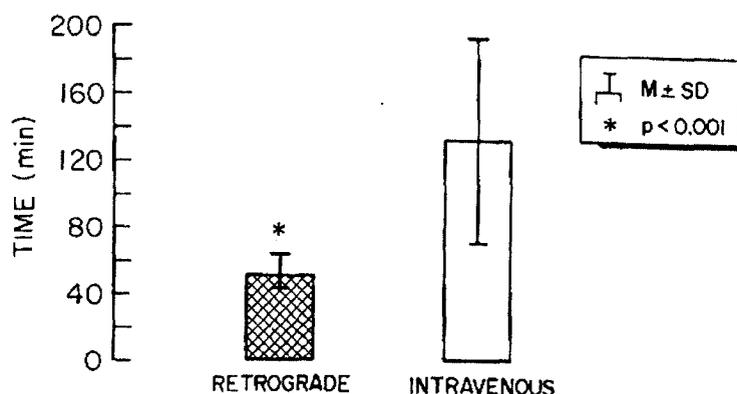


Figura 30. Mesmas informações apresentadas na Figura 29, juntando os dois grupos (retroinfusão manual e retroperusão de estreptoquinase) de infusão retrógrada (retrograde) do trombolítico, e comparando com a infusão venosa sistêmica (intravenous) da droga. Observa-se uma diferença estatisticamente significativa no tempo (time) de recanalização da artéria descendente anterior entre as duas modalidades, com tempos mais prolongados com o uso sistêmico de estreptoquinase. M = valores médios; SD = desvio padrão.

## DISCUSSÃO

Este estudo preliminar indica que a administração retrógrada de estreptoquinase através das veias coronárias dissolve o trombo na artéria coronária num período de tempo muito menor, comparado a infusão endovenosa sistêmica da droga, com uma variabilidade dos tempos de recanalização também menor. A indução da trombose intra-arterial coronária foi obtida através da colocação de um espiral de cobre na artéria descendente anterior, conforme método anteriormente descrito e publicado (149). A

formação deste trombo obviamente difere da situação clínica, onde a fissura da placa, com posterior formação de trombo, é a forma clássica de obstrução da artéria, com propagação do trombo para o centro do lúmen arterial. Esta forma é diferente daquela usada nestes experimentos, onde o trombo que se forma sobre o espiral de cobre pode ter características distintas, particularmente no que se refere a interação da parede arterial, ou endotélio, com o próprio trombo. No ser humano, há uma grande variedade de possíveis configurações das lesões obstrutivas coronárias sobre as quais trombose pode ocorrer. Além disto, a lesão obstrutiva pode ser de tal monta que mesmo após lise do trombo pode haver fluxo coronário baixo e perfusão miocárdica pobre.

As implicações terapêuticas potenciais do método aqui apresentado são várias. Primeiro, nós documentamos a possibilidade de lise do trombo arterial coronário pela administração retrógrada de estreptoquinase, através das veias coronárias. Isto foi alcançado tanto por infusão intermitente manual de estreptoquinase, quanto pela retroinfusão contínua associada a retroperfusão de sangue arterial. Nesta última instância, o método torna-se mais atraente, porque a retroperfusão protege o miocárdio isquêmico enquanto a trombólise não se processa, o que levou uma média de 50 minutos no presente estudo. É bem conhecido o fato de que neste período pode ocorrer lesão celular irreversível extensa no homem, onde a necrose se desenvolve rapidamente após oclusão total da artéria coronária. Um outro aspecto curioso foi que não se observou arritmias de reperfusão, o que ocorre com muita frequência em casos de reperfusão anterógrada, talvez relacionado ao fato de que a isquemia miocárdica está sendo tratada com retroperfusão enquanto a trombólise não ocorre.

Em vista dos achados acima descritos, e adicionando-se o fato de que a dose do trombolítico usada neste estudo é bem menor que a dose empregada por via endovenosa, o uso desta técnica pode ser considerada na prática clínica. Dificuldades potenciais que envolvem o procedimento deveriam ser melhor investigadas, particularmente em relação a problemas de

sangramento que possam ocorrer pelo uso do trombolítico em paciente com linha arterial.

### 5.5.3 ANÁLISE FARMACOCINÉTICA DA RETROINFUSÃO CORONÁRIA: UMA COMPARAÇÃO COM ADMINISTRAÇÃO ARTERIAL CORONÁRIA USANDO METOPROLOL COMO AGENTE TRAÇADOR (PROTOCOLO 7).

Das experiências feitas com retroperfusão de sangue arterial nas veias coronárias de corações extirpados de gatos, Pratt concluiu, em 1893, que a "nutrição do coração de mamíferos não depende completamente das artérias coronárias" (18). Em 1948, Beck e colaboradores (19) introduziram o conceito de retroperfusão na prática médica, através de cirurgia de Beck, onde sangue arterial foi desviado por uma anastomose entre a aorta e o seio coronário em pacientes com cardiopatia isquêmica.

O interesse em intervenções via seio coronário ressurgiu em 1976, quando Meerbaum e colegas introduziram o conceito de retroperfusão transcutânea com um catéter especial, e sincronizada com a diástole cardíaca (32). Logo após, tornou-se evidente que o método poderia também ser utilizado para veiculação de agentes farmacológicos, junto com a retroperfusão ou isoladamente. Experiências recentes demonstraram o benefício da retroinfusão de vários agentes farmacológicos em situações de isquemia miocárdica aguda (150-158), mas pouco se conhece sobre a farmacocinética da retroinfusão de drogas, como por exemplo, qual a concentração do fármaco no miocárdio.

Os objetivos deste estudo são os seguintes: primeiro, comparar a administração intravenosa sistêmica com a retroinfusão de drogas, em termos da sua distribuição no plasma, e também no miocárdio isquêmico e não-isquêmico, após oclusão aguda da artéria coronária em porcos. Além disso, pretendemos testar a hipótese de que a infusão de uma droga pela veia coronária poderia resultar numa concentração miocárdica similar àquela obtida pelo uso intra-arterial coronário da mesma droga.

## MÉTODOS

Vinte e dois porcos de ambos os sexos, pesando 27 a 45 kg (média de 34 kg) foram incluídos no estudo. Os animais foram premedicados com hidrocloreto de ketamina (20 mg/kg) e atropina (0,1 mg/kg intramuscular). A anestesia foi induzida por uma injeção endovenosa de pentobarbital sódico (20 a 30 mg/kg) e mantida por uma infusão contínua desta droga, na dose de 2 a 6 mg/kg/hora. Após traqueostomia, os animais foram ventilados mecanicamente, utilizando um respirador tipo Harvard. A frequência respiratória e o volume Tidal foram ajustados para manter o pH e a pressão parcial de dióxido de carbono dentro de limites normais. A temperatura corporal foi mantida entre 37,5 e 38 graus C usando colchonetes elétricos. Dois catéteres número 4F foram introduzidos pelas veias femorais e posicionados na veia cava inferior para administrar drogas, fluidos, e para retirada de amostras sanguíneas para análise (Figura 31). Um catéter número 7F foi posicionado no arco aórtico através da artéria carótida esquerda e usado para medir pressão aórtica. A pressão ventricular esquerda foi medida através de um catéter com um transdutor pressórico distal (MikroTip, Millar Instruments, Houston, Texas), inserido através da artéria carótida direita e posicionado no ventrículo esquerdo. A primeira derivada da pressão ventricular esquerda (dP/dt) foi obtida por diferenciação elétrica. Nos porcos que receberam retroinfusão de drogas, um catéter guia número 8F foi inserido pela veia jugular externa e posicionado no seio coronário. O acesso ao coração foi feito através de toracotomia no 5º espaço intercostal esquerdo e o pericárdio foi aberto. Em todos os cães, exceto naqueles pertencentes ao grupo D, 2 ligaduras com fio de seda foram passadas em volta da artéria descendente anterior; uma delas foi feita 1 cm abaixo do primeiro ramo diagonal, e a segunda 1,5 cm mais distalmente. Nos porcos do grupo D, somente a ligadura mais proximal foi feita. Em todos os porcos, exceto naqueles do grupo E, um catéter número 4F especial para retroinfusão (Figura 32) foi posicionado na veia interventricular anterior, através do catéter guia previamente situado no seio coronário. Este catéter possui duplo lúmen, sendo que o lúmen central serviu para a infusão retrógrada de metoprolol, e o segundo lúmen para insuflar o balonete distal do catéter e com isso criar um

compartimento venoso, evitando assim o refluxo de metoprolol para o seio coronário. Um catéter intravenoso número 2F (Angiocath) foi introduzido num ramo da veia interventricular anterior para medir a pressão venosa coronária, distalmente ao ponto de oclusão. Todos os animais receberam uma dose de heparina (3000 UI) após instrumentação. O eletrocardiograma foi monitorizado usando a derivação D-II, e as pressões foram continuamente monitoradas utilizando um polígrafo tipo Electronics for Medicine, modelo VR 12.

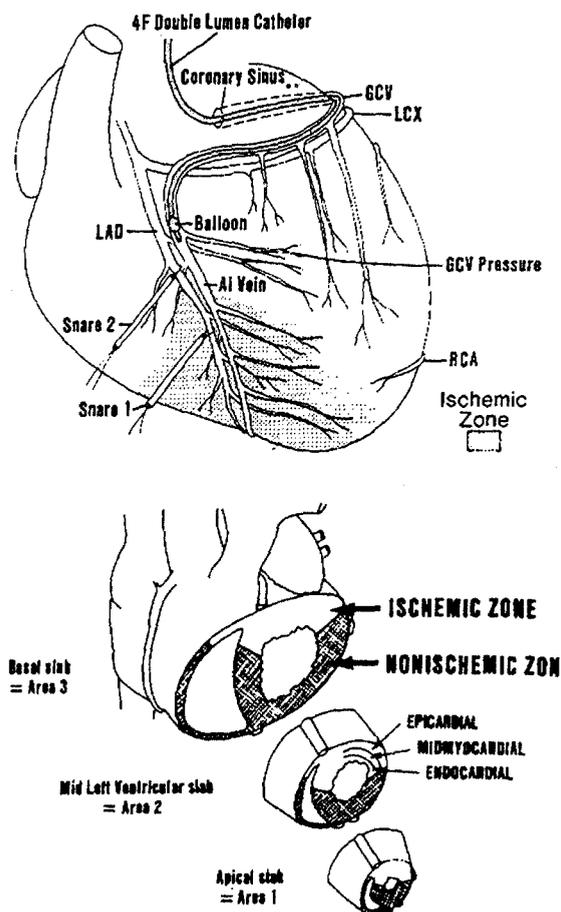


Figura 31. Ilustração esquemática da preparação experimental utilizada. A Figura de cima mostra os locais de ligadura (snare 1 e snare 2) da artéria descendente anterior (LAD). A posição do balonete (balloon) ocluser do catéter de duplo lumen (4F double lumen catheter) e do catéter venoso coronário (coronary sinus) estão indicados. Os locais de aferição da pressão venosa coronária na veia cardíaca maior (GCV pressure) e veia interventricular anterior (AI Vein) também são mostrados. A área cinza indica a região isquêmica (ischemic zone). A ligadura 1 (snare 1) foi usada para obstrução parcial coronária, e a ligadura 2 (snare 2) para obstrução total. No grupo C, oclusão coronária completa foi feita pela ligadura 2. Nos grupos C e E uma agulha nº 18 foi colocada no local da ligadura 2. A figura inferior mostra cortes apical, (area 1), médio-ventricular (mid left ventricular slab, area 2) e basal (basal slab = area 3) para estudo das regiões isquêmicas (ischemic zone) e não-isquêmicas (nonischemic zone), nas camadas epicárdicas (epicardial) médio-miocárdicas (midmyocardial) e endocárdicas (endocardial); LCX = artéria circunflexa; RCA = artéria coronária direita.

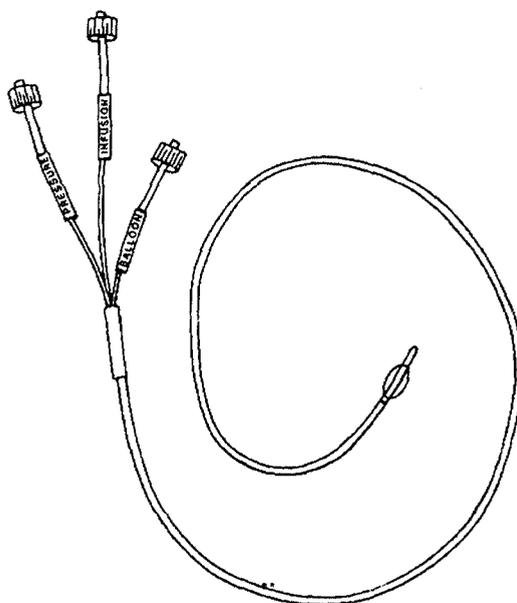


Figura 32. Desenho esquemático do cateter de retroperfusão com seus 3 lúmens: o de infusão de drogas (infusion), o de insuflação do balonete (balloon) e o lumen para medida de pressão na veia coronária (pressure).

**Tabela 14.** Dados relacionados ao protocolo experimental nos 5 grupos estudados

Grupo	Droga	Local de infusão	Dose (mg/kg)	Concentração da droga (mg/ml)	Observações
A (n=6)	<sup>3</sup> H-metoprolol	veia coronária	0,2	0,5	infusão após 30 min de oclusão coronária, morte 60 min após
B (n=5)	Metoprolol	átrio direito	0,2	0,5	como no grupo A
	<sup>3</sup> H-metoprolol	veia coronária	0,2	1,0	
C (n=3)	Metoprolol	átrio direito	0,2	1,0	como no grupo A, mas com flush na artéria descendente anterior
	Metoprolol	veia coronária	0,2	0,5	
D (n=3)	Metoprolol	veia coronária	0,2	0,5	infusão após 1 min de oclusão arterial, com morte 15 min após
E (n=5)	Metoprolol	ADA	0,2	0,5	infusão 30 min após oclusão coronária completa, morte 60 min após

ADA = artéria descendente anterior

Procedimento experimental. A Tabela 14 resume os procedimentos nos 5 grupos de porcos estudados. Após instrumentação e antes de ocluir a artéria descendente anterior, registros hemodinâmicos foram obtidos em todos os animais, os quais foram divididos em 5 grupos. Nos porcos dos grupos A, B, C e E, a ligadura distal na artéria coronária descendente anterior foi comprimida em volta de uma agulha hipodérmica número 20. Ao remover esta agulha, a artéria fica parcialmente ocluída, sendo que 30 minutos depois a ligadura mais proximal foi apertada. Este procedimento de ligadura seqüencial da artéria foi feito para minimizar o risco de fibrilação ventricular,

freqüentemente observado em porcos submetidos a oclusão abrupta da artéria coronária (158). Depois de 30 minutos de isquemia total, os porcos dos grupos A e B receberam metoprolol, simultaneamente infundido pela veia coronária (0,2 mg/kg de metoprolol marcado com trítio= H<sup>3</sup>-metoprolol) e por veia sistêmica (0,2 mg/kg de metoprolol não-marcado). Imediatamente antes do início da retroinfusão de metoprolol, o balonete do catéter posicionado na veia interventricular anterior foi insuflado, a fim de impedir regurgitação da droga para o átrio direito; este balonete foi mantido insuflado pelo período de 5 minutos de infusão, e por mais 2 minutos após o término da infusão. Por inspeção visual, foi certificado de que o balonete ocluiu completamente a veia coronária. A única diferença entre os grupos A e B foi a concentração de metoprolol, que foi de 0,5 mg/ml no grupo A e de 1 mg/ml no grupo B. Estes animais foram sacrificados 60 minutos após o início da infusão de metoprolol. Os porcos do grupo C foram tratados de forma idêntica aos do grupo A e B, exceto que receberam apenas metoprolol não-marcado pela veia coronária. Nestes animais, solução salina (10 ml) foi infundida durante 1 minuto por um catéter número 18 (Angiocath), introduzido diretamente na artéria coronária descendente anterior no local da oclusão mais proximal, sendo que a infusão foi simultânea a oclusão. Portanto, a artéria coronária, neste caso, foi ligada em torno deste catéter nos porcos do grupo C. No grupo D, a artéria coronária foi ocluída proximalmente, sem a oclusão parcial prévia distal, e metoprolol não-marcado foi infundido através da veia coronária um minuto após oclusão, numa forma similar àquela previamente descrita. Estes animais foram sacrificados 15 minutos após infusão de metoprolol. No grupo E, os animais foram tratados da mesma forma que os porcos dos grupos A e B, exceto que o metoprolol não-marcado foi infundido direto na artéria descendente anterior, utilizando um catéter igual aquele usado no grupo C. Para delinear as regiões isquêmicas e não-isquêmicas do miocárdio, 20 ml de solução de azul de monastral a 10 % foram injetados no átrio esquerdo ao final dos experimentos, e antes de sacrificar os animais, em todos os grupos; após isto, e ainda sob anestesia profunda, uma dose letal de cloreto de potássio foi administrada endovenosamente. Registro de dados

hemodinâmicos foram feitos antes da oclusão arterial coronária, e aos 5, 15, 30 e 60 minutos após o início da infusão de metoprolol. Sangue para análise da concentração de metoprolol foi obtido aos 5, 10, 15, 20, 30, 45 e 60 minutos após o início da infusão da droga. Após a retirada do coração, o mesmo foi fatiado em 3 cortes igualmente espaçados entre o ápice e a base do ventrículo esquerdo. Tecido isquêmico (de acordo com a coloração de azul de monastral) foi retirado para análise de todos os cortes, enquanto que para a análise do tecido não-isquêmico, foi retirada amostra somente do corte intermediário, ou médio-ventricular. Cada amostra transmural de miocárdio foi então separada nas suas porções subendocárdica, médio-miocárdica e subepicárdica. Amostras de plasma e miocárdio foram preservadas a uma temperatura de  $-20^{\circ}$  C até que se processasse a análise respectiva. As concentrações de metoprolol nos homogenizados de tecido e no plasma originados das infusões endovenosas foram calculadas como as diferenças entre as concentrações de metoprolol e metoprolol marcado ( $H^3$ -metoprolol), as primeiras determinadas por espectrometria de massa e cromatografia gasosa, conforme método previamente descrito (159,160). O  $H^3$  metoprolol foi determinado nas mesmas amostras de tecido utilizando contagem por cintilação líquida, após separar os seus metabólitos por meio de cromatografia líquida colunar (161). As frações com um tempo de retenção correspondente ao sinal ultravioleta standard para metoprolol foram coletadas em cintilação líquida (Ready Safe, Beckman Instruments) e a radiatividade das amostras medida com um contador de cintilação líquida (Beckman, modelo 388). Validação deste método foi feita previamente; nos experimentos atuais, níveis de metoprolol acima de 10 pmol/g puderam ser determinados com um desvio padrão relativo de menos de 10% (159,160). Já os níveis de  $H^3$ -metoprolol puderam ser quantificados com um desvio padrão de 2,8 a 3,8 % em 10 amostras testadas, numa concentração que variou entre 15 e 400 pmol/g.

Análise Estatística. A análise estatística incluiu a análise de variância (ANOVA) com um fator grupal e com fatores repetidos. Caso a análise tenha demonstrado efeito estatístico ( $p < 0,05$ ), os dados foram subsequentemente analisados com teste de Tukey, para dados pareados com comparação múltipla

(162,163). Comparações dentro do mesmo grupo foram feitas com análise de variância tipo Friedman (164), usando procedimentos de ranqueamento. Resultados estatisticamente significativos aqui foram avaliados a seguir com o teste não-paramétrico de Tukey para múltiplas comparações. Todos os dados estão apresentados como valores médios e erro padrão, e um valor de p menor que 0,05 foi considerado significativo.

## RESULTADOS

Os resultados hemodinâmicos estão colocados nas Tabelas 15 e 16. Não houve diferença estatística entre os grupos nas medidas basais de controle, ou após oclusão arterial coronária. Após infusão de metoprolol, não houve diferença estatística na frequência cardíaca, pressão sistêmica ou pressão ventricular esquerda, mas observou-se uma redução significativa na  $dP/dt$  do ventrículo esquerdo aos 5 e 15 minutos após o início da infusão (Tabela 15). No grupo A, oclusão da veia coronária e retroinfusão de metoprolol causou um aumento na pressão venosa coronária, atingindo o pico no final da infusão (Tabela 16); o aumento da pressão venosa nos porcos do grupo B, que receberam um volume menor de retroinfusão, foi menos pronunciado. Ao final da infusão, a pressão de pico na veia coronária foi de  $43 \pm 5$  mmHg no grupo A,  $30 \pm 6$  mmHg no grupo B,  $47 \pm 2$  mmHg no grupo C, e  $59 \pm 5$  mmHg no grupo D. A pressão mais alta registrada foi de 66 mmHg num animal do grupo D.

**Tabela 15.** Achados hemodinâmicos antes da oclusão arterial coronária e em vários tempos após infusão de Metoprolol

Variável	Controle	Tempo após Metoprolol (min)				
		0	5	15	30	60
<b>Frequência cardíaca (bat/min)</b>						
Grupo A	116±7	107±7	102±6	104±7	104±7	106±8
Grupo B	104±5	102±5	101±5	100±4	99±4	101±5
Grupo C	127±6	133±13	128±10	125±8	125±9	125±10
Grupo D	-	123±4	110±4	105±2	-	-
Grupo E	113±6	103±9	105±8	101±7	101±7	100±7
<b>Pressão arterial (mmHg)</b>						
Grupo A	88±6	87±6	86±7	87±7	88±8	89±10
Grupo B	97±6	105±6	114±8	117±10	117±10	120±11
Grupo C	86±3	89±6	84±5	90±6	91±6	93±6
Grupo D	-	94±3	87±4	86±5	-	-
Grupo E	100±9	93±8	89±7	90±7	91±6	93±7
<b>Pressão sistólica VE (mmHg)</b>						
Grupo A	101±6	102±5	102±5	103±6	104±7	113±6
Grupo B	115±5	123±7	130±8	135±10	134±10	138±10
Grupo C	99±5	104±8	98±7	103±7	105±6	106±7
Grupo D	-	110±1	106±6	101±7	-	-
Grupo E	119±9	114±8	105±6	109±9	110±8	113±8
<b>Pressão diastólica VE</b>						
Grupo A	9±1	12±1	12±1	11±1	11±1	10±1
Grupo B	9±2	10±2	11±2	9±2	9±1	9±1
Grupo C	10±1	14±3	13±1	14±1	14±1	13±1
Grupo D	-	9±1	13±2	12±2	-	-
Grupo E	11±1	13±1	13±2	12±1	12±1	12±2
<b>+ dP/dt (mmHg x s<sup>-1</sup>)</b>						
Grupo A	1268±116	1183±102	1049±89*	1111±72*	1121±92	1231±39
Grupo B	1279±153	1465±205	1133±125*	1269±156*	1305±148	1292±111
Grupo C	1478±17	1096±201	1013±141*	933±102*	933±107	1014±78
Grupo D	-	1367±256	1012±119*	993±118*	-	-
Grupo E	1472±195	1562±166	1168±128*	1235±174*	1260±126	1240±142

\* p < 0,05 vs 0 minuto após Metoprolol

+ dP/dt = primeira derivativa da elevação da pressão ventricular esquerda

**Tabela 16.** Pressão venosa coronária (em mmHg) antes e após infusão de Metoprolol

Grupo e n <sup>o</sup> do animal	Controle	Tempo após Metoprolol (min)				
		0	5	15	30	60
A1	17	13	44	13	12	10
A2	10	6	17	4	6	5
A3	13	13	40	30	20	12
A4	13	14	44	11	20	19
A5	23	9	23	14	16	10
A6	3	2	22	1	1	2
Média	13	10	32	12	13	10
EP	3	2	5*	4	3	2
B1	20	16	16	14	12	10
B2	10	9	15	8	8	10
B3	10	7	9	5	4	4
B4	10	5	12	2	2	2
B5	10	8	25	4	4	2
Média	12	9	15	7	6	6
EP	2	2	3	2	2	2
C1	20	12	32	6	5	6
C2	9	10	31	10	10	10
C3	10	9	25	7	7	6
Média	13	10	29	8	7	7
EP	4	1	2	1	1	1
D1	-	11	43	14	-	-
D2	-	23	35	25	-	-
D3	-	17	45	12	-	-
Média	-	17	41	17	-	-
EP	-	3	3	4	-	-

EP = erro padrão

\* p &lt; 0,001 vs tempo 0

As concentrações plasmáticas de metoprolol estão ilustradas na Figura 33, tanto após infusão intravenosa quanto pós-retroinfusão. Os resultados mostrados são aqueles referentes ao grupo A apenas, pois não houve diferença entre os grupos em relação a concentração plasmática de metoprolol. Esta foi de 1188 +/- 503 nmol /L (metoprolol não-marcado após infusão endovenosa, valor médio), comparado a 417 +/- 155 nmol/L de metoprolol marcado após retroinfusão (p < 0,001). Os níveis plasmáticos de metoprolol marcado retroinfundido permaneceram significativamente mais baixos ao longo dos 60 minutos de observação (p < 0,05).

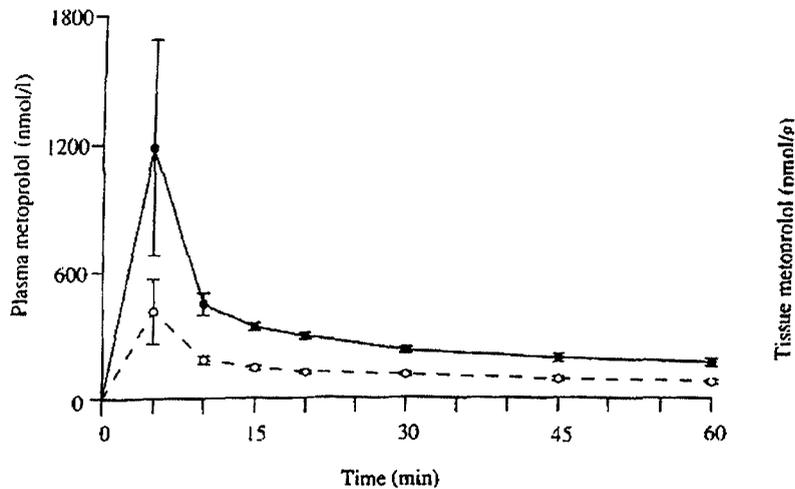


Figura 33. Concentração plasmática de metoprolol (eixo vertical) após infusão endovenosa (círculos negros, metoprolol não-marcado) ou retrógrada (metoprolol marcado, círculos brancos) na veia coronária, na dose de 0,2 mg/Kg. Os dados foram obtidos dos animais do grupo A (time = tempo).

As concentrações miocárdicas de metoprolol nas regiões isquêmicas e não-isquêmicas, no subendocárdio, subepicárdio e região médio-miocárdica, após injeção intravenosa (metoprolol não-marcado) e após retroinfusão (metoprolol marcado) no grupo A estão apresentados na Figura 34. Tanto após infusão sistêmica quanto após retroinfusão, as concentrações de metoprolol nas regiões não-isquêmicas foram de aproximadamente 260 pmol/g. As concentrações nas regiões isquêmicas após retroinfusão foram substancialmente mais elevadas, com valores de 16800 +/- 7.744 pmol/g na região subendocárdica, de 39590 +/- 18043 na região médio-miocárdica e de 57143 +/- 29030 no subepicárdio. A diferença na concentração miocárdica entre as regiões isquêmicas e não-isquêmicas foi estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ), como também foi o gradiente transmural, com as concentrações menores observadas no subendocárdio e as maiores no subepicárdio ( $p < 0,05$ ). Observou-se quantidades muito pequenas de metoprolol não-marcado (injetado endovenosamente) nas regiões isquêmicas ou não-isquêmicas. Houve uma tendência para concentrações teciduais maiores nas regiões apicais comparadas às basais, atingindo valor estatístico nas camadas subendocárdica e médio-miocárdica ( $p < 0,05$ , Figura 35).

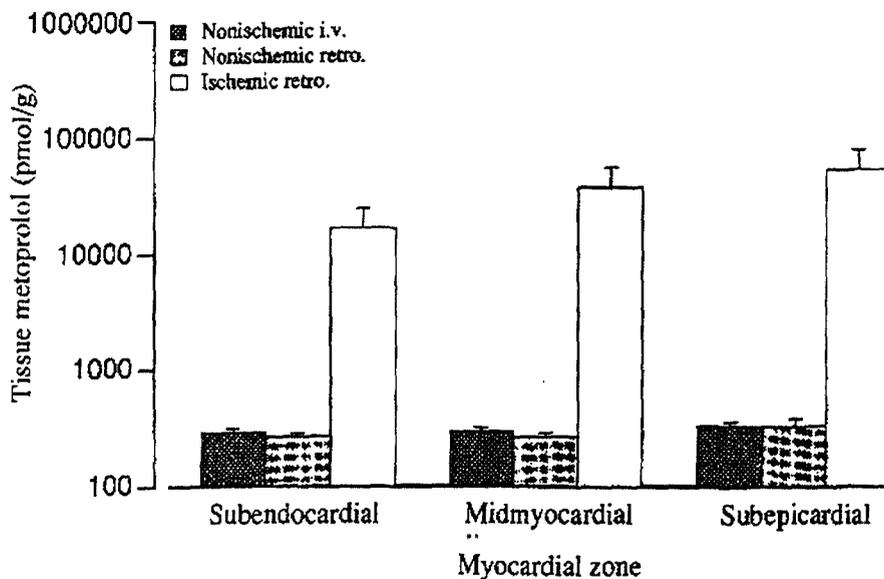


Figura 34. Concentração tecidual (tissue metoprolol) de metoprolol após infusão de 0,2 mg/Kg intravenoso (IV) de metoprolol não-marcado ou infusão retrógrada (retro) de metoprolol marcado, em regiões isquêmicas (ischemic) e não-isquêmicas (nonischemic). As medidas são apresentadas nas regiões subendocárdicas (subendocardial), médio-miocárdicas (midmyocardial) e subepicárdicas (subepicardial). Observe o aumento acentuado das concentrações teciduais nas regiões isquêmicas após retroinfusão (barras brancas).

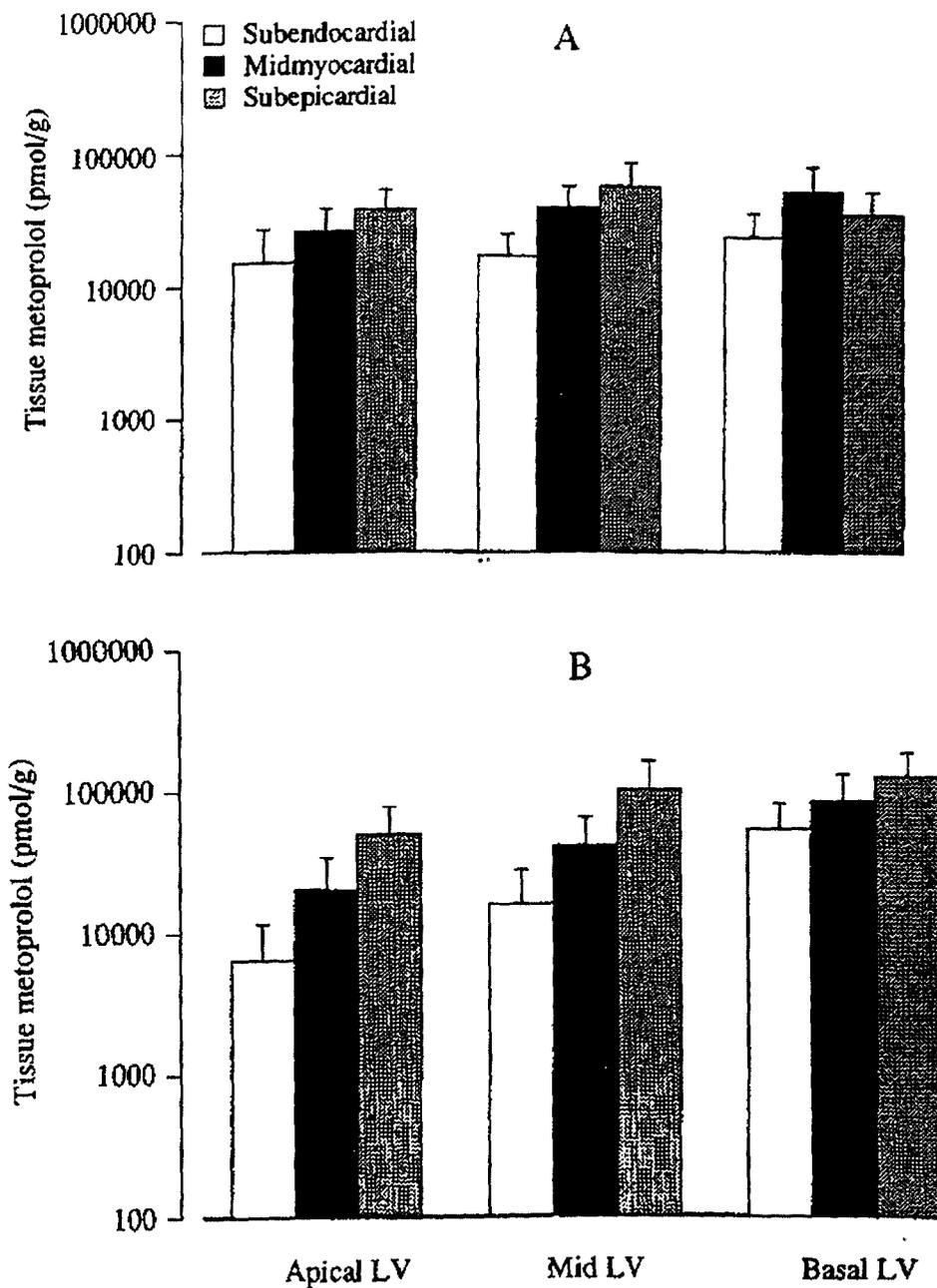


Figura 35. Concentração miocárdica de metoprolol nos cortes apical (apical LV), médio-ventricular (Mid LV) e basal (basal LV), nas regiões subendocárdicas (subendocardial), médio-miocárdica (midmyocardial) e subepicárdica (subepicardial) em cães do grupo A (retroinfusão de metoprolol, Figura A) e do grupo E (infusão de metoprolol direto na artéria descendente anterior, Figura B). Veja o texto para explicações.

**Tabela 17.** Concentração miocárdica de Metoprolol após retroinfusão coronária (em pmol/g de tecido)

Grupo e nº do animal	Não isquêmico			Isquêmico		
	Endo	Med	Epi	Endo	Med	Epi
A1	305	297	458	22200	85000	102000
A2	198	187	169	85	116	519
A3	296	314	505	42200	99000	181000
A4	292	278	272	35100	46000	36600
A5	277	291	284	596	2960	3907
A6	219	229	301	621	4462	18830
Média	265	266	332	16800	39590	57143
EP	18	20	51	7774	18043	29030
B1	205	233	257	83	60	137
B2	139	135	129	51	58	122
B3	279	267	260	64	-	221
B4	281	235	291	826	3633	3615
B5	338	340	369	15380	63000	65000
Média	248	242	261	3281	16688	13819
EP	35	33	39	3028	15460	12813
C1	330	343	336	2030	8900	121000
C2	291	300	313	7100	58000	53000
C3	359	336	380	9900	31100	59000
Média	327	326	343	6343	32667	77667
EP	20	13	20	2303	14196	21736
D1	790	1960	3470	93000	247000	321000
D2	1320	1590	1700	31400	59500	183400
D3	1410	1300	1510	1500	2950	18700
Média	1173	1617	2227	41967	103150	174367
EP	193	191	624	26937	73754	87383
E1	402	414	484	257	176	339
E2	234	254	298	4160	18100	7400
E3	282	246	410	4030	5700	5800
E4	496	930	540	8600	52000	235000
E5	670	530	494	63000	132000	265000
Média	417	475	445	16009	41595	102708
EP	78	126	42	11822	24328	60330

Endo = endocárdio

Med = miocárdio médio

Epi = epicárdio

EP = erro padrão

Os efeitos dos vários modos de administração do metoprolol sobre a concentração tecidual da droga nas regiões isquêmicas estão resumidos na Tabela 17. Usando o grupo A como padrão, observa-se uma tendência para concentrações tissulares menores após infusão com volumes menores (grupo B). Lavagem da artéria coronária antes de sacrificar os animais ao final dos experimentos (grupo C) não alterou a concentração miocárdica de metoprolol. Retroinfusão da droga 1 minuto após oclusão arterial coronária

(grupo D) resultou em concentrações miocárdicas maiores, comparado a retroinfusão feita 30 minutos após a oclusão. Já a administração anterógrada da droga via artéria descendente anterior (grupo E) resultou em concentrações miocárdicas de metoprolol comparáveis aquelas observadas com a retroinfusão (grupo A). Houve uma correlação entre a pressão média na veia coronária durante a retroinfusão e a concentração miocárdica da droga no grupo A, sendo que o valor de  $p$  foi 0,885, 0,814 e 0,816 para as regiões subendocárdica, médio-miocárdica e subepicárdica, respectivamente. Estes resultados estão ilustrados na Figura 36 para os 14 porcos dos grupos A, B e C, os quais foram submetidos ao mesmo protocolo.

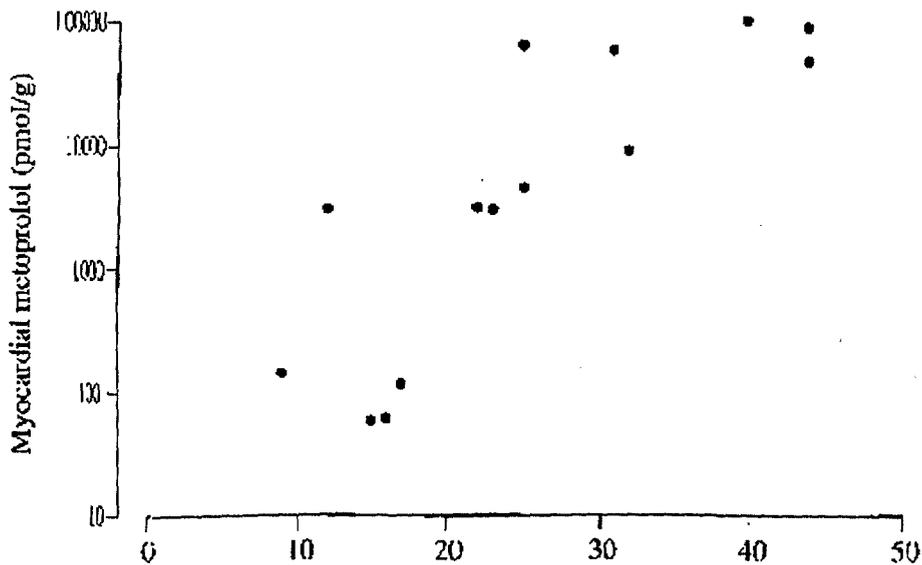


Figura 36. Relação entre a concentração miocárdica de metoprolol (eixo vertical) e a pressão venosa coronária (eixo horizontal, em mmHg) atingida no final do período da retroinfusão da droga nos 14 porcos dos grupos A, B e C.

## DISCUSSÃO

As informações disponíveis sobre a concentração miocárdica de agentes farmacológicos administrados através das veias coronárias são escassas. Karagueuzian e colegas estudaram a eficácia da procainamida em cães com taquicardia ventricular induzida pós-infarto, comparando a retroinfusão com a infusão endovenosa da droga (165). Os autores encontraram concentrações miocárdicas de procainamida 9 a 100 vezes maior nas regiões isquêmicas após retroinfusão comparada a infusão sistêmica, mas não há detalhes conclusivos sobre as diferenças entre os dois modos de administração da droga. Naquele

estudo, retroinfusão de procainamida foi mais eficiente para abortar taquicardia ventricular sustentada do que a infusão venosa sistêmica. Num estudo piloto recente, o nosso grupo de pesquisas demonstrou um aumento considerável da concentração de metoprolol na região isquêmica após retroinfusão, também comparada a infusão sistêmica (166). O presente estudo é o primeiro a investigar em mais detalhes a farmacocinética da retroinfusão coronária, demonstrando que é possível a administração regional de agentes farmacológicos através do sistema venoso coronário, e que esta técnica resulta em concentrações miocárdicas muito mais altas do que a infusão sistêmica, em regiões isquêmicas do miocárdio, após oclusão arterial coronária aguda. A técnica utilizando metoprolol marcado com trítio ( $H^3$ ) e metoprolol não-marcado permitiu o uso de experimentos onde os porcos serviram como seus próprios controles, excluindo os problemas relacionados a comparações em animais diferentes, com diferenças na circulação coronária, em parâmetros hemodinâmicos, etc.

**Concentrações miocárdicas de metoprolol.** Na vigência de isquemia, uma droga com alto grau de solubilidade lipídica penetra com mais facilidade no miocárdio isquêmico, comparada a drogas com baixa solubilidade lipídica (167). O metoprolol tem uma solubilidade lipídica relativamente alta, e desta forma possui propriedades farmacocinéticas favoráveis ao uso endovenoso (168). No entanto, a penetração da droga nas regiões isquêmicas foi relativamente pobre após infusão sistêmica no presente estudo. Retroinfusão de metoprolol marcado, por outro lado, resultou num acúmulo substancial da droga no miocárdio isquêmico. Nas regiões não-isquêmicas, a concentração da droga foi similar após infusão sistêmica ou retroinfusão. Presumivelmente, a droga atingiu as regiões não-isquêmicas através de conexões do próprio sistema venoso coronário, ou então pela circulação sistêmica após drenagem direta nas cavidades ventriculares via sistema de Thebesius. O acúmulo de metoprolol nas regiões isquêmicas é a explicação mais razoável para concentração plasmática mais baixa da droga após retroinfusão. Vários mecanismos podem ter contribuído para os elevados níveis tissulares de metoprolol após retroinfusão. Como a retroinfusão foi feita numa veia

regional que drena sangue da área de suprimento da artéria descendente anterior, a droga teria fácil acesso a esta zona isquêmica e de baixa pressão de perfusão tecidual. Com a ausência de fluxo coronário anterógrado para a área isquêmica, a droga pode se acumular com maior facilidade a nível microvascular.

**Efeitos hemodinâmicos.** No presente estudo, foram observados efeitos hemodinâmicos discretos após a administração de metoprolol, apesar da alta concentração da droga nas regiões isquêmicas. Entretanto, esta área já se encontrava não-funcionante devido a isquemia profunda, e as concentrações nas regiões não-isquêmicas foram muito baixas, fazendo com que o efeito inotrópico negativo da droga não fosse pronunciado. É reconhecido o fato de que, no modelo experimental utilizado, ou seja, porcos anestesiados com ketamina seguida de pentobarbital, os efeitos dos bloqueadores beta adrenérgicos sobre a frequência cardíaca são pequenos. Isto tem sido documentado com metoprolol(166) e também com propranolol(169).

**Comparação entre retroinfusão e infusão arterial coronária anterógrada.** Esta comparação entre os animais do grupo A (retroinfusão) e do grupo E (infusão intra-arterial coronária direta) demonstrou uma concentração miocárdica de metoprolol parecida entre os dois grupos. Isto nunca foi documentado anteriormente, pelo nosso conhecimento, e representa uma informação importante em termos do potencial deste método para administração local de fármacos. Ambas as formas de administração resultaram num gradiente transmural das concentrações tissulares, com concentrações menores nas regiões subendocárdicas. Também é interessante o fato de que a distribuição da droga foi similar do ápice à base do ventrículo esquerdo.

**Gradiente transmiocárdico de metoprolol.** Há várias explicações possíveis para os gradientes transmiocárdicos observados. Uma possibilidade seria o represamento da droga nas veias subepicárdicas; este mecanismo é pouco provável, considerando os achados em porcos submetidos a lavagem anterógrada pela artéria coronária com solução salina antes de sacrificar estes animais (grupo C). Neste caso, as concentrações de metoprolol foram

semelhantes àquelas encontradas nos animais não submetidos a este procedimento. Os resultados encontrados no grupo C indicam que a droga retroinfundida distribui-se no líquido do espaço intersticial, e não nas vênulas, veias ou capilares. Um outro achado interessante é que a retroinfusão feita 1 minuto após oclusão arterial coronária (grupo D) resultou em concentrações e gradientes similares àqueles encontrados 60 minutos após oclusão. Para algumas drogas, como procainamida, viabilidade celular parece ser importante para a ligação da droga, porque níveis muito mais baixos de procainamida foram encontrados em tecido necrosado, comparado aos níveis em tecido isquêmico viável (165). Isto pode não ocorrer com outros medicamentos, e precisa ser melhor estudado. No suíño, 30 minutos de oclusão arterial coronária pode causar dano miocárdico severo (171-173).

**Papel da anatomia da circulação venosa e pressão venosa coronária.** A fim de promover a absorção local da droga pelo miocárdio isquêmico, prevenção de regurgitação da droga para o átrio direito foi feita através da insuflação do balonete na ponta do catéter de retroinfusão. Além disso, evitou-se ultrapassar pressões de pico maiores que 60 mmHg, pressão esta associada a lesão do sistema venoso coronário, de acordo com estudos anteriores (32). No presente estudo, não observamos lesões no sistema venoso coronário dos animais. Por outro lado, a importância da elevação da pressão coronária durante a retroinfusão está evidenciada na correlação estreita entre concentração miocárdica de metoprolol e pressão venosa coronária. Embora a retroinfusão de metoprolol tenha resultado numa concentração alta na região isquêmica, houve grande variabilidade individual. A explicação para isto se deve provavelmente a anatomia do sistema venoso coronário e desvios do volume retroinfundido para regiões não-isquêmicas e para as cavidades cardíacas. Coincidentemente, o animal do grupo A com menor concentração da droga na região isquêmica foi justamente aquele com menor pressão venosa coronária durante a retroinfusão, enquanto que o animal no grupo B com maior pressão venosa foi também o que apresentou a mais alta concentração do fármaco no miocárdio.

## LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Neste estudo, comparações estatísticas formais foram feitas somente entre os animais que receberam retroinfusão de metoprolol marcado e não-marcado, em infusões de alto e baixo volume, e comparando infusão anterógrada com retrógrada. O número de animais utilizados para estudar a importância da duração da oclusão coronária e a influência da lavagem com soro fisiológico sobre as concentrações miocárdicas foi pequeno. Estes grupos de experiências foram acrescentadas tão somente para ilustrar os possíveis mecanismos da elevação da concentração miocárdica de metoprolol no miocárdio isquêmico. Entretanto, as similaridades dos resultados obtidos nos grupos C e D, e aqueles encontrados nos grupos A, B e E sugerem que as conclusões do estudo são justificáveis.

## CONCLUSÕES

A retroinfusão de drogas através do sistema venoso coronário resulta numa acumulação específica da droga no miocárdio isquêmico após oclusão arterial coronária aguda, similar as concentrações obtidas por infusão intra-arterial coronária diretamente na região isquêmica. Esta alta concentração não parece resultar do acúmulo da droga nas vênulas. Além disto, o acúmulo da droga nas regiões não-isquêmicas foi pequeno, não causando nenhum efeito indesejável no caso do metoprolol. Na região isquêmica, a droga retroinfundida nestas circunstâncias é distribuída com certa uniformidade do ápice a base do ventrículo esquerdo, mas com gradiente transmiocárdico evidente.

#### 5.5.4 RETROINFUSÃO DO VARREDOR DE RADICAIS LIVRES DEFERROXAMINA REDUZ O TAMANHO DO INFARTO EM PORCOS SUBMETIDOS À OCLUSÃO ARTERIAL CORONÁRIA (PROTOCOLO 8).

Radicais livres de oxigênio como o ânion superóxido ( $O_2^-$ ) e o radical hidroxila ( $OH^-$ ) têm sido implicados como substâncias determinantes da disfunção miocárdica pós-reperfusão, e até pela injúria da perfusão (115,116,174,175). Varredores de radicais livres de oxigênio, por outro lado, quando administrados antes (176-181) ou concomitantemente (122,182-184) a perfusão, reduzem a disfunção pós-isquêmica e a injúria de perfusão, como tem sido demonstrado em vários estudos experimentais (175-184). Entretanto, alguns estudos contestam estes achados, refutando os efeitos benéficos destes agentes (185-189). O ferro livre ( $Fe^{3+}$ ) é um íon abundante nas células miocárdicas e endoteliais, e catalisa a formação do radical citotóxico hidroxila ( $OH^-$ ) através da reação de Haber-Weiss, a qual requer um metal de transição para que a reação se proceda (174,190,191). A deferoxamina é um agente quelante do ferro que inibe a formação de radicais hidroxila pela via de catalização do ferro (192). Esta droga tem sido testada em animais de experimentação (181,183,193,197), e em estudos clínicos (198), onde parece ter sido responsável pela redução da injúria de perfusão.

A retroinfusão de medicamentos pelas veias coronárias, na presença de oclusão arterial coronária completa, resulta em altas concentrações da droga no miocárdio isquêmico, concentrações teciduais estas muito maiores do que aquelas encontradas após administração sistêmica por via endovenosa (165,166,199). Estudos experimentais recentes (153,200), comparando a administração sistêmica com a retroinfusão de varredores de radicais livres em animais submetidos a oclusão arterial coronária aguda, demonstraram benefícios apenas com a retroinfusão (em relação aos grupos controle). Isto pode ser explicado pelo fato de que estas drogas teriam um efeito apenas local (no miocárdio isquêmico), e não sistêmico; como o acúmulo da droga nas

regiões isquêmicas é maior quando a mesma é administrada através das veias coronárias, conforme anteriormente demonstrado (199), não é surpresa que o efeito benéfico dos varredores de radicais livres só apareça com administração local dos mesmos.

No presente estudo, avaliamos a eficácia da administração retrógrada (pela veia cardíaca maior) da deferroxamina, comparada a sua administração sistêmica (por via endovenosa) em porcos submetidos à oclusão arterial coronária aguda seguida de reperfusão.

#### MÉTODOS:

Foram incluídos no estudo vinte e nove porcos, com peso variando entre 21 e 35kg, de ambos os sexos. Os animais foram mantidos em jejum por 12 horas e pré-medicados com ketamina intramuscular (20 mg/kg/peso) e sulfato de atropina (0,04mg/kg). A anestesia foi então induzida com uma injeção em bolo de pentobarbital sódico (20 a 30mg/kg), e mantida com infusão contínua de pentobarbital, numa dose de 2 a 6 mg/kg/hora. A dose final e a velocidade de infusão foram determinadas pela resposta individual de cada animal. Traqueostomia foi feita para iniciar a ventilação mecânica, utilizando para isto um respirador tipo Harvard. A frequência respiratória e o volume tidal foram ajustados a fim de manter os gases sanguíneos arteriais dentro dos padrões normais. Dois catéteres número 5F foram introduzidos pelas veias femurais e posicionadas na veia cava inferior para administração de drogas e fluidos. Um catéter número 7F foi introduzido através da artéria carótida esquerda, posicionado no arco aórtico, e conectado a um transdutor de pressão Stathan P23Db para medidas de pressão na aorta. Um catéter número 8F tipo Mikro-Tip (Millar Instruments) foi inserido através da artéria carótida direita e posicionado na cavidade ventricular esquerda, para medidas de pressão sistólica e diastólica final, além da primeira derivada ( $dp/dt$ ) da pressão ventricular esquerda. No grupo da retroperfusão, um introdutor número 8F foi inserido através da veia jugular externa esquerda e posicionado no óstio do seio coronário. O acesso ao coração foi feito através de uma toracotomia esquerda, no quinto espaço intercostal. O pericárdio foi então

incisado e a artéria coronária descendente anterior dissecada; um ocluser ajustável foi colocado logo após a emergência do segundo ramo diagonal da descendente anterior. Um catéter de duplo lúmen número 4F foi então posicionado na veia cardíaca maior distal (próximo a veia interventricular anterior), através do introdutor previamente colocado no seio coronário.

Para medidas de contração regional do ventrículo esquerdo, foi utilizada a técnica de cristais ultrassônicos. Dois pares de cristais piezoelétricos de 5 MHz foram implantados distalmente a área de oclusão, sendo que um dos pares foi implantado na região isquêmica e o outro na região não-isquêmica (pósterolateral). Os cristais foram colocados na porção média do miocárdio, 10 a 15 mm de distância um do outro, e orientados paralelamente ao eixo menor do ventrículo esquerdo. As distâncias entre os cristais foram medidas com um sonomicrômetro (modelo 120-1000, Triton Technology), e o encurtamento percentual em sístole (ES%) calculado com a fórmula:  $ES\% = \frac{dDF - dSF}{dDF} \times 100$ , onde dDF = distância em diástole final e dSF = distância em sístole final entre os cristais. No grupo da retroperfusão, um catéter de uso venoso número 22 (Angiocath) foi introduzido num ramo da veia interventricular anterior para medidas de pressão venosa coronária. A Figura 37 mostra o método de retroinfusão, sendo que o lúmen central do catéter foi utilizado para infusão de deferroxamina, e o segundo lúmen foi usado para insuflar o balonete e ocluir a veia coronária, a fim de prevenir regurgitação da droga para o átrio direito. Após a instrumentação, todos os animais receberam 300 U/kg de heparina sódica em bolo, seguida de 100 U/kg a cada 2 horas. O eletrocardiograma (derivação DII) e as pressões foram continuamente monitorados utilizando um polígrafo de 12 canais tipo Electronics for Medicine.

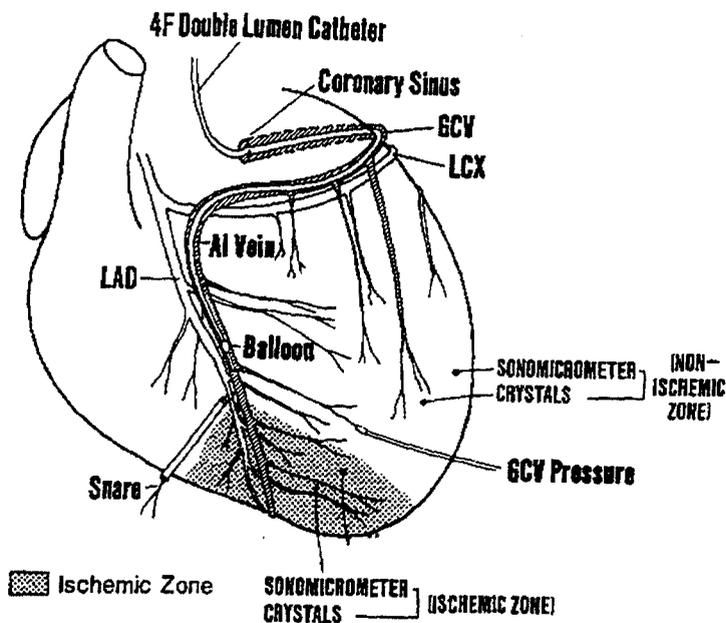


Figura 37. Esquema experimental mostrando a posição da ligadura (snare) na artéria descendente anterior (LAD) e a posição do catéter de retroinfusão próximo a veia interventricular anterior (AI Vein). A posição de implante dos cristais ultrassônicos (sonomicrometer crystals) nas regiões isquêmicas (ischemic zone) e não-isquêmicas (non-ischemic zone) estão ilustradas. Outras abreviações conforme Figura 31.

**Procedimento experimental.** Após oclusão arterial coronária, os animais foram randomizados para 3 grupos distintos: o grupo A (n=8) recebeu 10 mg/kg de deferroxamina (pêso molecular 656,8) dissolvida em 20 ml de água destilada, infundida pelo catéter de retroperfusão por um período de 5 minutos, iniciando a infusão 45 minutos após oclusão arterial coronária; o grupo B (n=8) recebeu a mesma dose de deferroxamina por via endovenosa, também aos 45 minutos de oclusão coronária; o grupo C (n=8) recebeu uma mesma quantia de solução salina isotônica via sistêmica. Durante a retroinfusão, o balonete do catéter foi mantido insuflado por 5 minutos, e por mais 2 minutos após o término da infusão. Aos 60 minutos pós-occlusão coronária, foi instaurada a reperfusion. Não foram usadas drogas anti-arrítmicas no estudo.

**Análise dos dados.** Os dados seqüenciais hemodinâmicos e de função contrátil regional foram obtidos antes da oclusão coronária, aos 45 e 60 minutos pós-occlusão, e aos 30, 60, 120 e 180 minutos após reperfusion. Após 3 horas de reperfusion, a artéria coronária foi rapidamente reocluida e azul de

monastral a 10% infundido no átrio esquerdo, para medida do leito isquêmico ou hipoperfundido. Após isto, os animais foram sacrificados com uma superdose de cloreto de potássio, e o coração rapidamente removido e fatiado em cortes de 5 a 7mm de espessura (no seu eixo menor), do ápice para a base. A área não-corada pelo azul de monastral representa a área isquêmica, a qual foi planimetrada. Os cortes foram então incubados em cloreto de trifeniltetrazólio, o qual cora o miocárdio viável em vermelho escuro(44). A extensão da necrose foi então desenhada em papel de acetato e as áreas planimetradas. A relação entre a necrose e a área de risco foi calculada.

Análise estatística. Os dados foram analisados com o método ANOVA (análise de variância) com medidas repetidas. Efeitos com significado estatístico ( $p < 0,05$ ) foram subseqüentemente analisados com teste t com correção de Bonferroni. Os valores estão expressos em valores médios e desvio padrão.

## RESULTADOS

Dos 29 animais que entraram no estudo, 5 desenvolveram fibrilação ventricular refratária após oclusão arterial coronária, e foram excluídos do estudo. Os achados hemodinâmicos estão resumidos na Tabela 18. Não houve diferenças significativas entre os três grupos em termos de frequência cardíaca, pressão diastólica final do ventrículo esquerdo ou  $dP/dt$  positiva ou negativa, tanto antes da oclusão arterial coronária, após oclusão, ou após reperfusão. Em cada um dos grupos, a frequência cardíaca aumentou e a pressão sistólica diminuiu gradativamente durante os experimentos, mas estas diferenças não atingiram valores estatisticamente significativos, o que também ocorreu em relação aos valores de pressão diastólica final do ventrículo esquerdo. No grupo da retroinfusão (grupo A), a pressão de pico na veia coronária ao final da infusão de deferroxamina foi de  $52 \pm 6$  mmHg. A Figura 38 mostra os traçados pressóricos típicos obtidos num dos animais tratados com retroinfusão de deferroxamina.

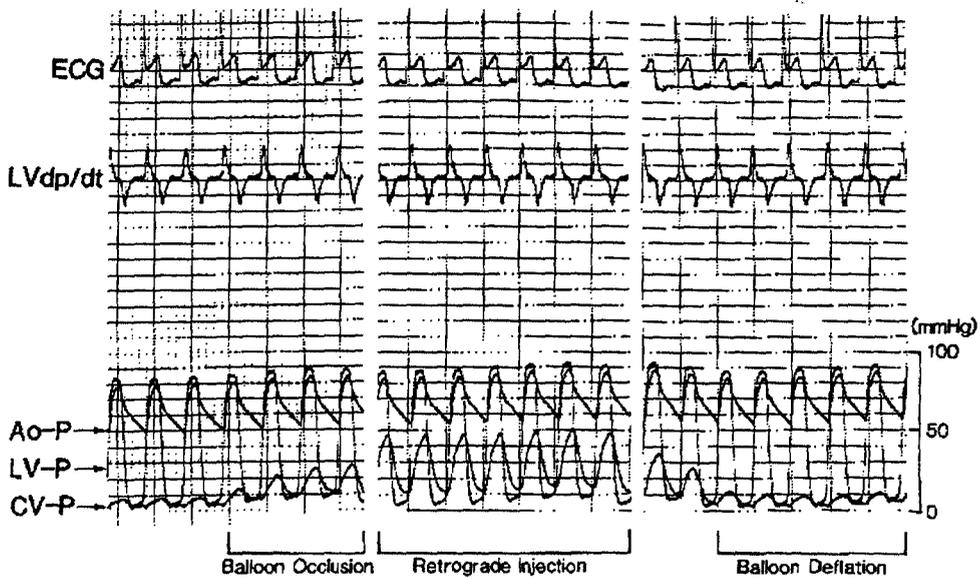


Figura 38. Traçados pressóricos e eletrocardiográficos típicos num dos porcos tratados com retroinfusão de deferroxamina, após oclusão aguda da artéria descendente anterior (veja supra-nível de ST ao ECG). Note aumento gradual de pressão venosa coronária (CV-P) durante a oclusão da veia coronária com o balonete do catéter (balloon occlusion) e durante a injeção retrógrada (retrograde injection) da droga, e posterior queda da CV-P com desinsuflação do balão (balloon deflation). Ao-P = pressão aórtica; LV-P = pressão ventricular esquerda; LV dP/dt = primeira derivativa da pressão ventricular esquerda.

A Tabela 19 mostra os resultados relativos a função ventricular esquerda regional, tanto nas regiões isquêmicas quanto não-isquêmicas. A oclusão arterial coronária causou discinesia nas regiões isquêmicas, sem alterar a contração nas regiões não-isquêmicas; não se observou alteração nestes padrões em nenhum dos três grupos de estudo durante os experimentos. Em relação ao tamanho do infarto, os dados estão resumidos na Tabela 20, com valores individuais. A área de risco foi similar entre os três grupos, respectivamente  $27 \pm 4,5\%$  no grupo A,  $32,3 \pm 6,6\%$  no grupo B, e  $30 \pm 9,9\%$  do ventrículo esquerdo no grupo C ( $p$ =não-significativo). O tamanho do infarto, expresso em termos de percentual da área de risco, foi de  $48,5 \pm 21,4\%$  no grupo A, de  $70,6 \pm 16,4\%$  no grupo B, e de  $73,9 \pm 13,5\%$  no grupo C, sendo, portanto, significativamente menor no grupo tratado com retroinfusão de deferroxamina ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 18.** Achado hemodinâmicos durante a oclusão coronária e reperfusão

	Oclusão			Reperusão			
	Pre	45 min	60 min	30 min	1H	2H	3H
<b>FC (bat/min)</b>							
Grupo A	109±21	113±16	111±23	117±29	111±23	109±24	107±24
Grupo B	123±19	114±22	122±35	128±26	129±22	132±25	134±24
Grupo C	121±20	121±23	116±21	120±19	124±25	128±29	125±27
<b>PS-Ao (mmHg)</b>							
Grupo A	106±15	104±15	102±13	99±20	104±17	101±13	103±14
Grupo B	106±10	109±11	98±30	98±18	97±17	96±20	100±18
Grupo C	105±13	100±16	97±9	91±18	100±15	99±12	97±12
<b>PD-Ao (mmHg)</b>							
Grupo A	82±16	80±16	80±14	73±16	80±15	77±13	77±12
Grupo B	85±12	88±8	76±30	76±19	77±18	77±19	77±22
Grupo C	83±16	77±15	77±14	70±16	81±14	78±12	75±11
<b>Pd2-VE (mmHg)</b>							
Grupo A	8±3	11±6	9±6	9±6	10±6	8±3	8±3
Grupo B	8±3	10±3	10±3	10±4	8±3	8±4	8±3
Grupo C	10±4	11±3	10±3	8±4	10±4	10±12	10±3
<b>+dP/dt (x 10<sup>3</sup> mm Hg/s)</b>							
Grupo A	1,39±0,17	1,28±0,17	1,33±0,21	1,25±0,24	1,24±0,27	1,15±0,15	1,19±0,20
Grupo B	1,44±0,29	1,32±0,31	1,21±0,41	1,33±0,38	1,24±0,37	1,18±0,27	1,27±0,30
Grupo C	1,43±0,25	1,32±0,20	1,35±0,21	1,24±0,19	1,39±0,24	1,28±0,23	1,22±0,21
<b>-dP/dt (x 10<sup>3</sup> mm Hg/s)</b>							
Grupo A	1,09±0,23	0,99±0,26	1,00±0,23	0,91±0,25	0,95±0,23	0,91±0,24	0,90±0,20
Grupo B	1,11±0,15	1,07±0,21	0,98±0,38	0,98±0,21	1,00±0,22	0,99±0,20	1,10±0,25
Grupo C	1,25±0,29	1,05±0,19	1,08±0,12	0,99±0,28	1,14±0,23	1,14±0,19	1,10±0,21

FC = frequência cardíaca

PS-Ao = pressão sistólica na aorta

PD-Ao = pressão diastólica na aorta

Pd2-VE = pressão diastólica final do ventrículo esquerdo

**Tabela 19.** Encurtamento sistólico percentual (% ES) em regiões isquêmicas e não isquêmicas

	Tempo de Oclusão			Tempo de Reperusão			
	Pre	45 min	60 min	30 min	1H	2H	3H
Isquêmico (%ES)							
Grupo A	14,4±5,6	-2,4±2,7	-2,9±4,5	-5,6±3,1	-3,0±3,3	-4,4±3,1	-2,5±3,9
Grupo B	16,9±3,9	-4,6±4,2	-4,1±3,7	-4,0±2,7	-4,3±3,1	-4,6±4,2	-4,3±3,6
Grupo C	18,6±4,9	-1,4±1,5	-0,5±1,4	-4,2±4,0	-4,4±6,5	-4,3±4,4	-3,3±3,3
Não isquêmico (%ES)							
Grupo A	18,8±9,6	19,4±9,4	20,1±10,7	18,9±9,8	18,6±10,9	17,2±10,9	17,2±10,4
Grupo B	17,2±4,0	16,6±5,1	16,4±4,4	18,3±5,6	16,2±7,0	13,8±6,6	16,7±6,3
Grupo C	19,4±5,5	19,9±6,6	20,5±6,1	17,8±3,5	17,7±5,2	17,4±5,8	18,0±5,2

Tabela 20. Áreas de risco e necrose do ventrículo esquerdo

Porco nº	Área de risco		Tamanho do infarto	
	% ventrículo esquerdo	% ventrículo esquerdo	% ventrículo esquerdo	% área de risco
Grupo A				
1	20,4	12,1	59,6	
2	31,1	1,4	4,7	
3	31,1	15,5	49,9	
4	25	9,1	36,2	
5	21,7	10,9	50,1	
6	26,3	18	68,6	
7	28,3	20,6	72,9	
8	32,4	15	46,4	
Média	27	12,8*	48,5*	
DP	4,5	6	21,4	
Grupo B				
1	35,3	30,5	86,3	
2	23,3	18,5	79,4	
3	28,7	18,1	63,2	
4	28,5	9,9	34,8	
5	29,4	20,2	68,7	
6	37	31,1	83,9	
7	31,4	24,3	77,5	
8	44,9	31,8	70,8	
Média	32,3	23,1	70,6	
DP	6,6	7,8	16,4	
Grupo C				
1	28,6	18,8	65,8	
2	37,5	27,7	73,9	
3	22,5	13,6	60,6	
4	24	12,6	52,7	
5	47	35,5	75,3	
6	15,3	13,9	91	
7	35,3	30,8	87,2	
8	30,1	25,5	84,8	
Média	30	22,3	73,9	
DP	9,9	8,8	13,5	

DP = desvio padrão

\*  $p < 0,05$  vs grupos B e C

## DISCUSSÃO

A reperfusão do miocárdio sujeito a isquemia aguda causa formação abrupta de radicais livres de oxigênio (120), com produção continuada dessas substâncias (201). Estas, pela sua natureza citotóxica, podem causar dano adicional ao miocárdio já isquêmico, o que pode resultar na negação do efeito potencialmente benéfico da reperfusão. Ha várias fontes potenciais de geração de radicais livres de oxigênio no miocárdio isquêmico e reperfundido. A primeira dessas fontes é o sistema xantinoxidase, que atua através da degradação da adenosina trifosfato (ATP) em hipoxantina (116). Com a

reintrodução de oxigênio molecular com a reperfusão, há uma subsequente reação com a hipoxantina, o que resulta na formação de ânions superóxido ( $O_2^-$ ), conforme anteriormente descrito (116). Outras fontes incluem a presença de neutrófilos ativados durante o processo de reperfusão (112,113), a via da ciclo-oxigenase, que atua no metabolismo do ácido aracdônico (116,174), e vazamento de elétrons do sistema de transporte mitocondrial; todos estes mecanismos podem gerar ânions superóxido, radicais hidroxila e outros radicais tóxicos (174,191,192).

A deferroxamina, um quelante do ferro, inibe a formação do radical livre hidroxila, que é altamente citotóxico, sendo parcialmente formado através da reação lenta de superóxido com peróxido de hidrogênio (reação de Haber-Weiss); quando esta reação é catalisada por ferro livre (reação de Fenton), a velocidade da reação de Haber-Weiss aumenta muito, conseqüentemente aumentando substancialmente a formação de hidroxila. A reperfusão aumenta a produção de superóxido, que por sua vez encontra-se mais disponível para reagir com peróxido de hidrogênio (reação de Haber-Weiss); além disso, o aumento da produção de superóxido aumenta a concentração de ferro livre, o qual normalmente está ligado as células endoteliais em forma de ferritina. Portanto, a deferroxamina, por ser um agente quelante do ferro, atuaria nos mecanismos acima citados, diminuindo a formação de radicais livres durante a reperfusão.

Os principais achados deste estudo, portanto, foram os seguintes: 1) deferroxamina administrada através do seio coronário ou por via endovenosa sistêmica não causou alterações nos parâmetros hemodinâmicos; 2) a deferroxamina não alterou a função miocárdica global ou regional, tanto nas regiões isquêmicas como não-isquêmicas, e 3) a deferroxamina diminuiu significativamente o tamanho do infarto do miocárdio apenas quando administrada por via retrógrada, não causando nenhuma alteração importante quando usada por via sistêmica.

**Função miocárdica regional.** Estudos experimentais (42,88,202,203) e clínicos (204-206) têm demonstrado que reperfusão precoce, após oclusão

arterial coronária aguda, melhora a função miocárdica regional. Entretanto, nos primeiros minutos ou horas após reperfusão, a função miocárdica pode não melhorar, ou até piorar (67,76,88), mesmo na ausência de necrose miocárdica, um fenômeno denominado miocárdio atordoado (207). Os radicais de oxigênio parecem desempenhar um papel importante no fenômeno do miocárdio atordoado (116,174), e varredores destes radicais livres parecem melhorar a recuperação da função miocárdica regional após isquemia reversível ou reperfusão (193,198). Estudos publicados recentemente demonstraram que a deferroxamina, administrada por via venosa antes da oclusão coronária, melhorou a função miocárdica regional em cães submetidos a 15 minutos de oclusão arterial coronária seguida de reperfusão por um período de 4 a 5 horas, sugerindo que a deferroxamina previne as alterações funcionais associadas ao miocárdio atordoado (193,195). A falta de melhora na função miocárdica regional no presente estudo está provavelmente relacionada ao longo período de oclusão arterial coronária, o que resultou em grandes áreas de necrose miocárdica (aproximadamente 70% da área de risco); isto não é surpreendente para o modelo experimental utilizado, já que é conhecido o rápido desenvolvimento de necrose no porco submetido a oclusão arterial coronária aguda. Nos animais que receberam deferroxamina por via retrógrada, a necrose foi de apenas 48% da área de risco; embora não se tenha observado melhora na função contrátil do ventrículo esquerdo no período estudado, esta redução da área necrosada foi significativa, e certamente resultaria numa melhor função miocárdica comparada aos outros dois grupos, o que poderia ser documentado se os animais fossem seguidos por um tempo mais prolongado. A deferroxamina (197) e outros varredores de radicais livres (177-193) têm sido investigados em trabalhos experimentais, com demonstração inequívoca de que estes agentes podem diminuir o tamanho do infarto. Num estudo em cães submetidos a 90 minutos de isquemia e 6 horas de reperfusão, Lesnefsky e colegas (208) demonstraram uma redução de 60% no tamanho do infarto com administração de deferroxamina endovenosa antes da oclusão arterial coronária. Reddy e colegas (197) comunicam uma redução de 40% no

tamanho do infarto em cães submetidos a 2 horas de oclusão da artéria descendente anterior, seguida de reperfusão por um período de 4 horas, ao passo que neste mesmo estudo não se verificou redução do tamanho do infarto quando a droga foi administrada 5 minutos antes da reperfusão. Naslund e colegas (209) encontraram uma redução de 15% no tamanho do infarto com a administração de dismutase superóxido em porcos submetidos a 60 minutos de oclusão arterial coronária e 24 horas de reperfusão; neste mesmo estudo, não se observou redução no tamanho do infarto quando a oclusão se estendeu por 90 minutos. Num estudo recente utilizando deferroxamina endovenosa em cães submetidos a 2 horas de oclusão arterial coronária e 20 a 24 horas de reperfusão (208), não se observou redução do tamanho do infarto; já em outro estudo, observou-se redução da necrose quando os animais foram sacrificados 4 horas após reperfusão (197), sugerindo que a administração endovenosa de deferroxamina apenas retarda o aparecimento de necrose.

**Varredores de radicais livres de oxigênio e tamanho do infarto.** Os efeitos dessas substâncias sobre o tamanho do infarto após oclusão arterial coronária ainda são muito controversos. Há várias possíveis explicações para estes resultados controversos, incluindo modelos experimentais distintos, tempo de isquemia miocárdica variável, espécie animal utilizada, e modo de administração das drogas. Acreditamos, porém, que um dos pontos críticos desta controvérsia esteja relacionado ao modo e local de administração da droga. Sabe-se que a quantidade do fármaco que atinge a zona isquêmica após oclusão arterial coronária completa, quando este é administrado por via sistêmica, é muito pequena, o que pode tornar o efeito do medicamento desprezível. Como os varredores de radicais livres teriam um efeito local e não sistêmico, é preciso atingir altos níveis de concentração tecidual destes agentes nas áreas isquêmicas, o que não ocorre com o uso intravenoso em muitos casos, justamente devido ao baixo fluxo sanguíneo nestas regiões. Um outro ponto é o tempo em que a droga foi injetada. Na maioria dos estudos negativos com estes agentes (185-188), as drogas foram administradas após oclusão coronária e antes da reperfusão miocárdica, enquanto que numa boa

parte dos estudos positivos (177,183) as drogas foram administradas antes da oclusão arterial coronária e continuamente durante o período de reperfusão. A administração antes da oclusão arterial coronária propicia a oportunidade de se atingir altas concentrações da droga no miocárdio, facilitando o seu efeito benéfico potencial durante o processo isquêmico prestes a se instalar. Já a injeção endovenosa em bolo durante o período de oclusão propicia níveis plasmáticos mais altos, e pode aumentar a concentração do fármaco através da circulação colateral. No presente estudo, houve uma redução de 35% no tamanho do infarto com a retroinfusão de deferroxamina iniciada 15 minutos antes da reperfusão, enquanto que com a administração sistêmica não se observou redução no tamanho do infarto. Recentemente, Hatori e colegas (153) obtiveram uma redução de 70% no tamanho do infarto com a retroinfusão de dismutase superóxido e catalase em cães submetidos a 90 minutos de oclusão coronária e 3 horas de reperfusão, enquanto que a administração endovenosa sistêmica destas mesmas drogas resultou numa redução de apenas 30% no tamanho do infarto. Em outro estudo, Wappel e colaboradores encontraram uma redução do tamanho do infarto muito mais significativa após retroinfusão de altas doses de propranolol, comparada a administração sistêmica (154). Estes achados corroboram a hipótese de que a redução do tamanho do infarto após retroinfusão está provavelmente relacionada com um aumento da concentração da droga no miocárdio isquêmico.

#### LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Uma das limitações do presente estudo é que não foi possível obter concentrações teciduais de deferroxamina no miocárdio, conforme foi o caso de outros estudos recentes (165,166,199), os quais demonstraram um aumento de 10 a 100 vezes na concentração da droga quando administrada por retroinfusão, comparada a infusão sistêmica. Outra limitação importante é que não foi medido fluxo sanguíneo miocárdico neste estudo. Entretanto, sabe-se que a circulação colateral no porco é muito pequena, e, além disto, a deferroxamina não altera o fluxo sanguíneo miocárdico, conforme demonstrado em outros estudos (193,195). A dose de 10 mg/kg de

deferroxamina foi escolhida com base em estudos anteriormente publicados(193), os quais mostraram melhora na função do miocárdio atordado com deferroxamina. Não se pode, entretanto, afastar a possibilidade de um efeito mais pronunciado sobre o tamanho do infarto, caso uma dose maior tivesse sido utilizada. Finalmente, os animais foram sacrificados após um período relativamente curto de reperfusão (3 hs), e portanto não se pode afastar a possibilidade de uma melhora mais tardia na função ventricular.

### CONCLUSÕES

Este estudo demonstra que a infusão local de deferroxamina, através das veias coronárias, diminui o tamanho do infarto em porcos submetidos a oclusão arterial coronária aguda, seguida de reperfusão por um período de 3 horas. Os resultados sugerem que este agente quelante do ferro previne a injúria da reperfusão através de um efeito cardioprotetor direto. Além disso, confirmam estudos prévios da superioridade da retroinfusão sobre a infusão sistêmica no modelo experimental testado.

### 5.5.5 PROTEÇÃO MIOCÁRDICA COM RETROINFUSÃO DE ADENOSINA EM PORCOS SUBMETIDOS À OCLUSÃO ARTERIAL CORONÁRIA AGUDA E REPERFUSÃO (PROTOCOLO 9).

Nos últimos anos, uma série de novas intervenções terapêuticas têm sido utilizadas para reperfundir o miocárdio isquêmico em pacientes com infarto agudo do miocárdio, particularmente o uso de trombolíticos (146-148) e angioplastia transluminal coronária (210-211). Apesar que estes métodos, de fato, permitem a recanalização da artéria ocluída na maioria dos casos, muitos pacientes terminam desenvolvendo necrose miocárdica. Nestes casos, a extensão da necrose ocorre não só como consequência de lesão celular irreversível já instalada mesmo antes da recanalização arterial, mas também por injúria de reperfusão, um fenômeno bem conhecido e detalhadamente estudado em animais de experimentação (66-73,87-90). Dentre as hipóteses levantadas para explicar esta injúria de reperfusão estão o fenômeno de não-refluxo (66,73), geração de radicais livres de oxigênio no miocárdio isquêmico-reperfundido (107-109), o paradoxo do cálcio (71-73), e ativação de neutrófilos (112-114).

A adenosina, que é um componente básico da cascata de degradação da adenosina trifosfato (ATP), uma molécula fundamental no processo de estoque e produção energética celular, possui um efeito vasodilatador potente, além de ter um papel importante no fenômeno de autoregulação do fluxo sanguíneo coronário (212). A adenosina é um forte inibidor da ativação dos neutrófilos (213-215), um dos prováveis mecanismos da injúria de reperfusão, e o seu uso em modelos experimentais de isquemia aguda e reperfusão tem resultado numa diminuição do tamanho do infarto (211-221). O método de administração de fármacos pelas veias coronárias durante oclusão arterial coronária aguda e reperfusão causa um aumento importante na concentração tecidual dessas drogas no miocárdio isquêmico, conforme previamente descrito (165-166). Neste estudo, nós analisamos a eficácia da retroinfusão de adenosina em porcos anestesiados e submetidos a oclusão

aguda da artéria descendente anterior, seguida de reperfusão, em termos do efeito deste método sobre o tamanho do infarto.

## MÉTODOS

Quarenta porcos com peso entre 25 e 35kg foram premedicados com ketamina intramuscular (20mg/kg) e atropina (0,1mg/kg), e anestesiados com tiomalal sódico (10mg/kg). Após traqueostomia, os animais foram ventilados com uma mistura de enflurane e oxigênio, usando um respirador tipo Harvard (modelo 607). A pressão parcial de gás carbônico e o pH foram mantidos em níveis fisiológicos ( $p\text{CO}_2$  35 a 45mmHg, e pH 7,35 a 7,45), ajustando o volume de ventilação e sua frequência. Bicarbonato de sódio foi administrado quando necessário. Um catéter número 7F foi inserido através da artéria carótida esquerda e posicionado na aorta ascendente para medidas de pressão aórtica, utilizando um transdutor de pressão tipo Stathan P23Db. Um microtransdutor montado num catéter número 5F (Millar Instruments Inc, USA) foi posicionado no ventrículo esquerdo através da artéria carótida direita, a fim de medir as pressões intraventriculares. A primeira derivada da pressão ventricular esquerda ( $dP/dt$ ) foi obtida através de diferenciação elétrica. Um terceiro catéter, número 7F, foi posicionado na aorta ascendente através da artéria femoral direita, para obtenção de amostras de sangue arterial para referência das medidas de fluxo sanguíneo miocárdico. Um catéter número 5F, introduzido pela veia femoral, foi posicionado no átrio direito para administração de fluidos e de medicamentos. Uma toracotomia esquerda foi então feita para exposição do coração. A artéria coronária descendente anterior foi dissecada imediatamente após o seu segundo ramo diagonal, e um ocluser ajustável posicionado neste ponto para posterior oclusão arterial. Um catéter número 5F foi inserido no átrio esquerdo para injeção de microesferas radioativas e medidas de fluxo sanguíneo miocárdico (222). Nos grupos da retroinfusão (veja protocolo), um catéter guia número 8F foi posicionado no seio coronário, através da veia jugular externa esquerda. Um catéter número 4F de duplo lúmen foi inserido através do catéter 8F e posicionado na veia interventricular anterior, retirando-se o catéter guia em seguida. A fim de monitorizar a pressão venosa coronária, um catéter

angiográfico calibre 22 foi inserido numa tributária da veia interventricular anterior, distalmente a ponta do catéter 4F. Após este período de instrumentação, heparina foi injetada por via endovenosa (300UI/kg). O ECG foi monitorizado junto com as pressões num polígrafo fisiológico (Electronics for Medicine, V-12).

**Administração de adenosina.** Adenosina foi dissolvida em 450ml de solução salina e infundida diretamente na veia interventricular anterior ou no átrio direito (veja protocolo), numa dose de 600 ug/kg (Sigma Chemical Company, USA), utilizando uma bomba de infusão (Harvard, modelo 600-900) por um período de 30 minutos (15ml/min, numa dose de 20ug/kg/min), iniciando-se a infusão 15 minutos antes da reperfusão. A infusão de adenosina foi feita insuflando-se o balonete do catéter 4F posicionado na veia interventricular anterior, a fim de impedir regurgitação da adenosina infundida; este balonete foi desinsuflado imediatamente antes da reperfusão, ou antes naqueles casos onde a pressão venosa coronária tenha ultrapassado os 60mmHg de pressão de pico (ou 40mmHg de pressão média). Após a reperfusão, este catéter 4F foi retirado até o átrio direito, a fim de evitar distúrbios na drenagem venosa coronária.

**Protocolo experimental.** Antes de iniciar a instrumentação dos animais, estes foram randomizados para 4 grupos distintos: grupo A, onde adenosina foi infundida retrogradamente através da veia coronária; grupo B, onde a adenosina foi infundida no átrio direito; grupo C, onde a mesma quantidade de solução salina foi retroinfundida pela veia coronária; e grupo D, onde solução salina isotônica foi infundida no átrio direito. A artéria descendente anterior foi ocluída em todos os grupos por um período de 60 minutos, seguida de 3 horas de reperfusão. Aos 45 minutos de oclusão, a administração da droga (ou placebo) foi iniciada. Em todos os animais, uma dose de 100 mg de tosilato de bretílio foi administrada 30 minutos antes da oclusão arterial coronária, a fim de prevenir fibrilação ventricular. Os parâmetros hemodinâmicos foram registrados antes da oclusão coronária, aos 45 minutos após oclusão (imediatamente antes da infusão da droga) e aos 60

minutos de oclusão (imediatamente antes da reperfusão); além disso, estas medidas foram também registradas aos 30, 60, 120 e 180 minutos após reperfusão.

**Estudos pós-morte.** Após o término dos experimentos e antes de sacrificar os animais, a artéria coronária descendente anterior foi ligada no mesmo local da oclusão prévia, e uma suspensão de azul de monastral (0,5ml/kg) foi injetada diretamente no átrio esquerdo. O coração foi então parado com uma dose endovenosa de cloreto de potássio (4mEq/kg), e removido em seguida, fatiado em cortes transversais (perpendicularmente ao seu eixo longitudinal) de 5mm de espessura, do ápice para a base do coração. As áreas não-coradas do miocárdio representam, portanto, as áreas de risco (áreas isquêmicas), as quais foram traçadas em papel plástico transparente para posterior cálculo dessas áreas. Após isso, os cortes foram incubados em cloreto de trifetil tetrazólio, o qual cora o miocárdio normal em vermelho (44), e as áreas infartadas foram traçadas também em papel transparente. As áreas de risco e as áreas infartadas foram então planimetradas.

**Fluxo miocárdico regional.** O fluxo miocárdico regional foi medido através do método de retirada de amostragem, conforme descrito anteriormente (222). Aproximadamente 2 milhões de microesferas radioativas (15um de diâmetro, EI Dupont de Nemours, Inc., USA) foram injetados no átrio esquerdo em 5 ocasiões distintas: pré-oclusão coronária, aos 15 e 55 minutos após oclusão, e aos 15 e 180 minutos pós-reperfusão. Estas injeções foram feitas com 5 isótopos diferentes, sendo cada um deles utilizado em cada tempo (Sc 46, Co 57, Nb 95, Ru 103 e Sn 113). As amostras de sangue arterial para referência foram obtidas da aorta descendente por um período de 5 minutos, a uma velocidade constante (4ml/min), usando uma bomba de retirada tipo Harvard, e iniciando a retirada de sangue 1 minuto antes de injetar as microesferas no átrio esquerdo. As amostras de miocárdio foram obtidas de 6 regiões diferentes para posterior medida de fluxo miocárdico: 1) da região isquêmica central (orientado pela coloração miocárdica com azul de monastral); 2) região não-isquêmica septal, próxima ao septo isquêmico

(bordo do septo isquêmico); 3) região não-isquêmica próximo a parede livre (lateral) do ventrículo esquerdo (bordo não-isquêmico lateral); 4) septo interventricular longe da área isquêmica (septo não-isquêmico); 5) parede livre do ventrículo esquerdo, distante da área isquêmica (parede lateral não-isquêmica); e, 6) na região não-isquêmica central. Cada uma dessas amostras miocárdicas transmuralis foram então subdivididas em 3 porções: subendocárdica, médio-miocárdica e subepicárdica. O espectro de radioatividade foi então medido por um contador gama (1185 Modular Automatic Gamma Counting System, Tm Analytic Inc, USA) e analisado com um "software" IBM compatível (Microsphere Measurement System, Micrad Inc, USA). O fluxo miocárdico regional foi então calculado aplicando-se a seguinte fórmula:  $FMSR = FSR \times CT / (CS \times \text{peso}) \times 100$ , onde FMSR= fluxo miocárdico sanguíneo regional; CT=contagem tecidual, FSR= velocidade de retirada do fluxo sanguíneo referencial, ou seja, 4ml/min; CS=contagem sanguínea; peso = peso úmido da amostra de miocárdio, em gramas. Os resultados são expressos em ml/min/100g de tecido.

**Análise estatística.** Análise de variância com medidas repetidas e análise de variância de uma via (ANOVA) foram feitas, sendo que para comparações múltiplas foi utilizado o teste tipo Student Neuman-Keules, a fim de examinar as diferenças nos valores médios entre os quatro grupos experimentais, e também entre as medidas obtidas em diferentes tempos. Um valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo. Todos os valores estão expressos em valores médios e seus respectivos desvios-padrão.

## RESULTADOS

Dos 40 porcos inicialmente estudados, 8 morreram por fibrilação ventricular após oclusão arterial coronária. Portanto, dos 32 porcos remanescentes, foram estudados 8 deles em cada um dos 4 grupos do protocolo.

**Achados anátomo-patológicos.** A área de risco, em termos de percentual da massa ventricular esquerda, foi similar nos quatro grupos: 26,3

+/- 7,0% no grupo A, 27,3 +/- 4,2% no grupo B; 28,9 +/- 4,1% no grupo C; e 29,8 +/- 4,1% no grupo D. O tamanho do infarto, expresso em percentual da massa ventricular esquerda, foi estatisticamente menor no grupo A (7,8 +/- 4,5%) comparado aos outros grupos (18,6 +/- 6,1% no grupo B, 16,6 +/- 5,6% no grupo C, e 18,7 +/- 4,0% no grupo D,  $p < 0,01$  em relação ao grupo A). Já o tamanho do infarto, expresso em percentual da área de risco, também foi estatisticamente menor ( $p < 0,001$ ) no grupo A (27,7 +/- 10,0%) do que nos grupos B (67,2 +/- 13,5%), C (56,4 +/- 11,5%) e D (63,4 +/- 10,8%). Estes resultados estão individualmente discriminados na Tabela 21.

Tabela 21. Achados anátomo-patológicos

Porco n <sup>o</sup>	Área de risco (%)	Área necro- sada (%)	Necrose % da área de risco	Porco n <sup>o</sup>	Área de risco (%)	Área necro- sada (%)	Necrose % da área de risco
<b>*** Retroinfusão de Adenosina (A)</b>				<b>*** Retroinfusão de Sol. Salina (C)</b>			
1	17,8	4,6	26,0	17	25,1	15,4	61,4
2	17,4	2,1	11,9	18	27,1	13,6	50,2
3	27,9	7,4	26,3	19	37,3	26,3	70,5
4	26,3	5,4	20,7	20	27,3	15,3	56,0
5	26,5	6,1	23,1	21	32,5	23,1	71,1
6	23,6	7,7	32,8	22	26,4	10,9	41,3
7	36,9	13,7	37,0	23	29,7	17,5	58,9
8	34,3	15,1	44,1	24	25,8	10,8	41,9
Média	26,3	7,8*	27,7 <sup>+</sup>		29,0	16,6	56,4
DP	7,0	4,5	10,0		4,1	5,6	11,5
<b>*** Adenosina I.V. (B)</b>				<b>*** Sol. Salina I.V. (D)</b>			
9	21,8	11,6	53,4	25	35,0	17,1	48,9
10	27,2	17,1	62,7	26	32,0	23,1	72,2
11	27,9	15,2	54,5	27	31,4	22,6	76,8
12	30,9	20,5	66,4	28	19,0	13,0	68,3
13	28,3	17,3	60,9	29	33,3	19,5	57,5
14	33,6	30,9	92,1	30	30,1	22,2	73,8
15	27,5	22,7	82,7	31	26,7	13,4	50,2
16	21,1	13,6	64,6	32	31,1	18,6	59,8
Média	27,3	18,6	67,2		29,8	18,7	63,4
DP	4,2	6,1	13,5		5,0	4,0	10,9

\*  $p < 0,01$  vs. Grupos B, C e D

<sup>+</sup>  $p < 0,001$  vs Grupos B, C e D

DP = desvio padrão

**Achados hemodinâmicos.** Todos os achados hemodinâmicos obtidos em condições basais (antes da oclusão) foram similares entre os grupos. Após oclusão da artéria descendente anterior, observou-se redução significativa da pressão arterial e também da frequência cardíaca (aos 60 minutos pós-

oclusão), mas não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Após 15 minutos de reperfusão, houve uma redução adicional da pressão arterial sistêmica em todos os grupos, exceto no grupo B, mas aos 180 minutos após reperfusão não se observou diferença significativa entre os grupos. O nível da pressão arterial sistêmica média foi bem mais baixo em relação aos valores basais e aos níveis de pressão arterial aos 60 minutos de oclusão arterial coronária (imediatamente antes da reperfusão). A pressão diastólica final do ventrículo esquerdo não se alterou significativamente em nenhum dos grupos durante o período do estudo. Estes dados estão resumidos na Tabela 22.

Tabela 22. Achados hemodinâmicos.

Grupo	Oclusão			Reperfusão				
	Pré	45 min	60 min	15 min	30 min	60 min	120 min	180 min
Frequência Cardíaca Bat/min	A 105±10	105±21	97±18*	113±27	108±24	110±20	104±37	99±16
	B 120±27	111±21	104±21*	115±26	118±26	107±20	99±15	115±32
	C 103±14	104±13	97±11*	108±27	105±23	112±31	107±40	108±40
	D 103±17	92±17*	92±18*	112±22	106±13	105±21	102±20	102±19
Pressão Aom (mmHg)	A 108±15	92±13*	92±16*	73±22	68±16*+	74±14*†	67±8*†	64±7*†
	B 109±8	102±16	96±15*	93±25*+	86±22*†+	84±16*†	82±17*†	75±16*†
	C 106±12	87±22	86±18*	77±15	66±17*†	66±17*†	58±13*†	56±21*†
	D 107±20	95±17	93±18*	71±14	64±8*†	65±10*†	65±10*†	72±14*†
Pd2-VE (mmHg)	A 9±1	9±2	10±2	8±3	7±2	8±2	9±2	9±1
	B 10±2	10±4	11±4	9±4	9±4	9±4	9±3	8±4
	C 9±3	9±3	9±4	8±3	6±3	6±3	7±4	7±3
	D 9±2	10±3	10±3	8±2	7±3	8±2	8±3	8±3
dP/dt x 10 <sup>3</sup> (mmHg/s)	A 1,22±,15	1,36±,23	1,38±,28	1,14±3,4	1,06±,29	1,18±,28	1,20±,16	1,13±,16
	B 1,36±,25	1,40±,22	1,33±,25	1,42±,49*	1,23±,32*	1,18±,18	1,13±,20	1,17±,28*
	C 1,32±,13	1,28±,23	1,31±,20	1,05±,14	1,09±,22*	1,10±,23*	1,07±,16*	1,04±,21*
	D 1,33±,32	1,27±,33	1,21±,37	1,04±,22	1,08±,24	1,16±,26	1,11±,19	1,17±,28

Pré = pré-oclusão coronária;

Aom = aórtica média;

dP/dt = velocidade máxima de elevação da pressão ventricular esquerda.

\* p<0,05 vs. Pré-oclusão

† p<0,05 vs. 60 min de oclusão

+ p<0,05 vs. Grupo D

\* p<0,05 vs. Grupos C e D

**Fluxo miocárdico regional.** Os resultados nas regiões isquêmicas e não-isquêmicas estão resumidos nas Tabelas 23 e 24, respectivamente. Na região isquêmica central, não se observou diferença estatística entre os grupos nos períodos pré-oclusão, ou após oclusão arterial coronária, quando o fluxo nesta região foi praticamente nulo. Nos bordos septal e lateral da região isquêmica também houve uma diminuição severa do fluxo sanguíneo (abaixo de 10% do fluxo miocárdico basal, em controle). Aos 60 minutos de oclusão

coronária, e portanto 15 minutos após infusão de adenosina ou placebo (solução salina), também não se observou diferenças estatísticas em termos de fluxo sanguíneo miocárdico nas regiões isquêmicas (ou bordos) entre os 4 grupos. Após 15 minutos de reperfusão, hiperemia reativa foi observada nas regiões isquêmicas em todos os grupos, mas sem diferenças significativas entre os mesmos. Aos 180 minutos de reperfusão, o fluxo sanguíneo miocárdico voltou aos valores observados nas medidas pré-oclusão coronária. Nas regiões não-isquêmicas, o fluxo miocárdico foi similar em todos os grupos, e não foram verificadas alterações nestas áreas aos 15 minutos pós-oclusão arterial coronária. Aos 60 minutos de oclusão, o fluxo sanguíneo aumentou na região não-isquêmica apenas no grupo B, enquanto que nos outros grupos houve uma pequena redução de fluxo. Após 15 minutos de reperfusão, o fluxo diminuiu nas regiões não-isquêmicas nos grupos A, C e D, enquanto que no grupo B houve um aumento de quase 50% no fluxo sanguíneo miocárdico. Ao final dos experimentos, 180 minutos após reperfusão, o fluxo miocárdico nas regiões não-isquêmicas diminuiu em relação aos valores obtidos aos 15 minutos pós-reperfusão nos grupos B, C e D, enquanto que no grupo A observou-se um pequeno aumento do fluxo. Se compararmos os níveis de fluxo miocárdico nas regiões não-isquêmicas em controle (pré-oclusão coronária) aos valores obtidos aos 180 minutos de reperfusão, observamos uma redução de fluxo em todos os grupos.

**Tabela 23.** Fluxo miocárdico nas regiões isquêmicas. (ml/min/100g de miocárdio)

Grupo	Camada	Oclusão (O)			Reperusão (R)	
		Pre-O	15m-O	55m-O	15m-R	180m-R
<b>Região Isquêmica Central</b>						
A	Endo	83±28	2±1	1±1	70±41	53±28
	Med	87±27	1±1	1±1	81±52	58±44
	Epi	86±21	2±3	1±1	158±78	69±46
	Trans	93±16	2±1	1±1	114±38	61±38
B	Endo	111±38	3±2	2±1	183±91	51±33
	Med	114±40	1±1	0±0	104±49	65±53
	Epi	109±37	0±0	1±1	356±100	72±40
	Trans	111±36	2±1	1±0	163±65	63±46
C	Endo	118±34	2±2	1±2	154±218	50±55
	Med	106±27	1±2	0±0	88±67	77±64
	Epi	94±17	1±1	0±1	207±62	93±44
	Trans	105±23	1±1	1±1	124±47	72±56
D	Endo	106±53	2±4	1±3	87±68	35±28
	Med	107±36	0±0	0±0	122±102	58±56
	Epi	102±24	1±1	0±0	270±162	89±52
	Trans	105±33	1±2	1±1	123±67	61±40
<b>Região Isquêmica Septal</b>						
A	Endo	79±35	4±3	3±2	104±48	55±33
	Med	81±33	2±1	2±2	112±74	57±42
	Epi	78±31	4±3	3±2	134±66	61±39
	Trans	100±29	8±7	5±6	170±95	94±55
B	Endo	112±34	5±6	8±7	220±82	54±45
	Med	119±38	4±4	3±4	182±83	58±51
	Epi	104±38	5±5	4±4	256±63	68±46
	Trans	123±25	6±8	7±5	181±94	87±80
C	Endo	104±35	11±7	11±9	119±83	55±43
	Med	109±35	4±3	4±4	106±81	65±46
	Epi	105±32	7±4	10±9	147±72	75±50
	Trans	112±30	7±4	9±10	155±78	75±56
D	Endo	98±41	7±7	3	168±153	57±40
	Med	76±30	5±4	2±2	163±82	67±45
	Epi	87±27	3±3	2±3	267±136	72±51
	Trans	93±30	4±4	2±3	203±147	64±48
<b>Região Isquêmica Lateral</b>						
A	Endo	105±41	3±2	3±3	90±61	54±22
	Med	106±51	2±2	2±2	128±95	70±45
	Epi	95±29	3±3	2±2	183±86	75±50
	Trans	101±34	4±3	2±2	147±81	68±38
B	Endo	125±47	1±1	1±2	208±112	54±28
	Med	136±54	3±2	2±1	178±115	71±53
	Epi	126±37	3±2	4±3	382±154	73±43
	Trans	128±39	3±2	3±3	265±114	65±37
C	Endo	120±35	2±2	6±8	94±62	51±51
	Med	112±35	2±3	3±3	173±110	101±70
	Epi	115±31	7±11	11±15	226±117	95±52
	Trans	115±33	4±5	7±8	166±189	78±53
D	Endo	121±52	3±4	2±2	99±69	41±26
	Med	110±31	3±3	2±3	145±121	62±54
	Epi	115±42	3±4	3±4	287±205	86±47
	Trans	111±37	3±3	3±2	178±121	64±40

Endo = endocárdio; Epi = epicárdio; Med = médio-miocárdico; Trans = fluxo transmural.

Tabela 24. Fluxo miocárdico nas regiões não-iskêmicas (ml/min/100g miocárdio)

Grupo	Camada	Oclusão (O)			Reperusão (R)	
		Pre-O	15m-O	55m-O	15m-R	180m-R
<b>Zona Não-iskêmica Central</b>						
A	Endo	155±39	152±41	129±28	98±39	122±47
	Med	135±30	145±34	124±28	94±34	123±40
	Epi	135±39	169±40	132±32	91±35	124±59
	Trans	141±32	155±36	129±29	95±36	123±49
B	Endo	176±60	169±44	174±44	260±121	134±31
	Med	158±38	153±61	170±50	280±174	123±23
	Epi	153±67	161±63	196±50	305±144	122±8
	Trans	162±52	161±54	180±43	276±138	126±18
C	Endo	152±48	142±35	133±33	123±47	82±20
	Med	145±52	138±39	128±29	123±43	113±46
	Epi	167±57	174±49	141±34	141±44	115±51
	Trans	155±51	152±40	133±24	130±43	92±11
D	Endo	158±70	150±53	100±37	101±37	100±28
	Med	141±60	133±47	89±38	106±38	105±38
	Epi	157±68	158±67	104±52	114±48	119±82
	Trans	148±64	146±54	105±40	109±39	107±47
<b>Zona Não-iskêmica Septal</b>						
A	Endo	117±35	141±35	123±31	91±38	123±56
	Med	98±29	112±33	97±25	79±33	98±45
	Epi	98±34	119±34	101±33	75±21	101±33
	Trans	104±30	123±30	106±26	81±29	106±43
B	Endo	142±56	143±40	175±66	255±136	112±33
	Med	115±27	120±27	142±46	231±135	97±17
	Epi	107±27	123±30	154±24	262±135	116±20
	Trans	121±33	128±31	144±45	244±127	111±24
C	Endo	121±44	124±29	110±21	113±42	97±15
	Med	113±49	107±33	98±31	111±43	108±35
	Epi	113±50	108±33	95±28	113±44	112±39
	Trans	115±45	114±30	102±24	116±43	107±27
D	Endo	141±76	138±59	84±44	103±40	98±39
	Med	123±62	123±42	86±33	116±35	105±65
	Epi	122±59	124±44	86±35	114±35	101±63
	Trans	125±62	123±46	81±35	107±35	102±55
<b>Zona Não-iskêmica Lateral</b>						
A	Endo	135±20	133±37	117±24	102±47	120±47
	Med	128±16	135±23	113±18	103±41	124±52
	Epi	139±47	159±39	138±37	116±49	130±47
	Trans	136±23	145±29	122±20	107±44	125±47
B	Endo	174±19	172±58	145±72	301±124	125±20
	Med	124±62	125±46	108±60	155±110	107±18
	Epi	147±47	168±44	173±58	309±148	114±20
	Trans	147±21	162±39	146±57	295±127	120±20
C	Endo	139±46	123±35	103±28	126±49	86±29
	Med	133±45	118±36	97±27	132±45	108±43
	Epi	161±63	126±41	105±28	132±50	113±34
	Trans	157±51	143±33	114±31	129±66	100±25
D	Endo	143±71	119±49	63±31	113±46	86±29
	Med	137±48	131±43	86±29	134±57	108±58
	Epi	127±48	141±52	115±70	138±53	113±73
	Trans	135±55	131±43	88±39	124±40	102±45

Endo = endocárdio; Epi = epicárdio; Med = médio miocárdio; Trans = transmural; O = oclusão; R = reperusão;

## DISCUSSÃO

A conclusão principal do presente estudo é de que a administração de adenosina local no miocárdio isquêmico, através das veias coronárias, reduziu o tamanho do infarto em aproximadamente 60%, comparado a administração de placebo.

Além disso, não se observou redução do infarto com o uso sistêmico endovenoso de adenosina. Esta redução do tamanho do infarto com retroinfusão de adenosina ocorreu sem modificação nos parâmetros hemodinâmicos ou circulação colateral; portanto, admite-se que houve um efeito benéfico local da adenosina nestes casos. A única outra variável que poderia ter influenciado o tamanho do infarto nestes experimentos foi o uso de bretílio, um antiarrítmico do grupo III de Vaughn-Williams (223). Entretanto, a mesma dose foi utilizada em todos os grupos, e, além disso, esta droga não causa redução do tamanho do infarto (224). O bretílio causa ativação da liberação de norepinefrina dos neurônios pós-ganglionares na fase inicial, e por isso causa um aumento transitório da frequência cardíaca e da pressão arterial (225); por esse motivo, as medidas hemodinâmicas basais foram tomadas 20 a 30 minutos após a administração de bretílio, a fim de evitar alterações naqueles parâmetros. Nesta fase, já ocorre um bloqueio da liberação de catecolaminas pelo bretílio. A adenosina é um vasodilatador arterial potente, e, portanto, com uma tendência a provocar taquicardia reflexa e redução da pressão arterial. No presente estudo, estas alterações não foram observadas, possivelmente devido a dose relativamente baixa de adenosina utilizada (20 µg/Kg/minuto, por 30 minutos), comparada a dose utilizada em outros estudos.

**Fluxo miocárdico regional.** A extensão da necrose miocárdica é altamente relacionada com a duração da isquemia e fluxo colateral. No porco, sabe-se que a circulação colateral é muito pobre ou inexistente, e portanto necrose ocorre rapidamente (226,227). No presente estudo, o fluxo miocárdico diminuiu para quase zero no centro da região isquêmica aos 15 minutos de oclusão arterial coronária, permanecendo nestes níveis até 60 minutos de oclusão, o que confirma uma pobre circulação colateral nestes

animais. Além disso, o uso do vasodilatador adenosina (grupos A e B) não influenciou as medidas de fluxo miocárdico obtidas durante o período de oclusão. Após reperfusão (aos 15 minutos), o fluxo miocárdico comparativo entre os grupos foi maior apenas na região não-isquêmica no grupo B, comparado ao grupo D ( $p < 0,05$ ). Portanto, a redução do tamanho do infarto observada no grupo A (retroinfusão de adenosina) não pode ser explicada com base em alterações do fluxo sanguíneo miocárdico.

**Redução do tamanho do infarto e possíveis mecanismos.** De acordo com os resultados verificados nos quatro grupos experimentais deste estudo, não se pode imputar a diminuição do tamanho do infarto no grupo A a alterações nos fatores determinantes de suprimento e demanda de oxigênio pelo miocárdio, pois não se observou diferenças significativas entre os grupos em termos de fluxo sanguíneo miocárdico, ou de parâmetros hemodinâmicos. Recentemente, radicais livres de oxigênio têm sido responsabilizados pela disfunção miocárdica que ocorre após reperfusão ("miocárdio atordoado"), e varredores de radicais livres administrados antes ou concomitantemente à reperfusão melhoram esta disfunção contrátil do miocárdio viável reperfundido (177-184). A fonte principal destes radicais livres ainda é uma questão controversa, mas sabe-se que eles podem ser originados do próprio endotélio, de neutrófilos ativados e das mitocôndrias (190,191). Há documentação indiscutível da produção súbita destes radicais livres imediatamente após reperfusão, fato este evidenciado com utilização de ressonância paramagnética e medidas da produção destes radicais (120).

Neutrófilos ativados após reperfusão parecem produzir radicais livres de oxigênio, e experiências em animais utilizando soro anti-neutrófilos reduziu o tamanho do infarto em alguns estudos (127,228), assim como a reperfusão tecidual assanguínea também reduziu a necrose em modelos experimentais (128). Sabe-se que a adenosina é um estabilizador dos neutrófilos, impedindo sua adesão ao endotélio, e conseqüentemente obstrução da microcirculação e liberação de radicais livres (215-220). Este seria o provável efeito benéfico da adenosina encontrado no presente estudo, já

que não houve alterações hemodinâmicas ou de fluxo miocárdico em decorrência do uso de adenosina no grupo A, onde se observou importante redução do tamanho do infarto. Outras drogas podem diminuir a liberação de radicais livres de oxigênio pelos neutrófilos ativados, como parece ser o caso da lidocaina. Esta droga estabiliza a membrana celular, reduzindo a produção do ânion superóxido "in vitro" (93,115), e alguns estudos mostram que a lidocaina reduz o tamanho do infarto nestas condições (224,229,230). A explicação provável para a não redução do tamanho do infarto no grupo B (administração sistêmica de adenosina) deve estar relacionada a falta de acesso da droga às regiões isquêmicas, já que o fluxo colateral no porco é muito baixo, o que foi documentado neste estudo através das medidas de fluxo sanguíneo miocárdico. Uma outra variável importante, e que pode explicar as diferenças observadas entre o grupo A (retroinfusão) e o grupo B (infusão sistêmica), é a meia vida da adenosina, que é extremamente curta, ou seja, de 0,6 a 1,2 seg (231). Na corrente sanguínea, a adenosina rapidamente se transforma em nucleotídeos da adenina, através da ação da adenosinoquinase dos eritrócitos (232). Com a administração sistêmica, vários segundos são necessários para a passagem venosa e pulmonar, tempo este suficiente para a metabolização da droga, antes mesmo que ela atinja a região isquêmica do miocárdio. Com a retroinfusão continuada, há liberação de adenosina dentro da região isquêmica, facilitando o efeito local da droga.

A adenosina, quando usada em doses mais altas por via endovenosa, pode causar efeitos indesejáveis importantes em mais de 80% dos casos (233), incluindo bradicardia e até bloqueio atrioventricular avançado temporário, angina de peito (por fenômeno de roubo), dispnéia e rubor facial, além de hipotensão arterial (234). Adenosina tem sido utilizada na prática clínica para teste diagnóstico de doença arterial coronária obstrutiva, em conjunto com tálcio 201 e outros radioisótopos (235-237). Nesta circunstância, a dose utilizada é de 140 ug/kg/min, bem mais alta, portanto, do que as doses utilizadas no presente estudo. Em outros estudos clínicos, a dose empregada foi de 50ug/kg/min (235), sem evidência de efeitos colaterais graves. Antes da aplicação do método acima descrito, entretanto, é necessário um melhor

conhecimento da farmacocinética da adenosina em seres humanos, particularmente quando infundida pelas veias coronárias.

Em resumo, no presente estudo foi possível confirmar o efeito benéfico da administração local (na área isquêmica) de adenosina em porcos submetidos a oclusão arterial coronária aguda, seguida de reperfusão. Observou-se uma redução significativa do tamanho do infarto nestes animais, enquanto que naqueles onde a droga foi administrada por via sistêmica este efeito não foi observado. Acreditamos que um estudo sobre o efeito da administração local de adenosina em pacientes com infarto agudo do miocárdio mereça consideração, particularmente naqueles pacientes submetidos a angioplastia na fase aguda do infarto, onde a droga poderia ser infundida localmente em conjunto com a reperfusão miocárdica.

## 6 ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS DE SEGURANÇA E EFICÁCIA DA RETROPERFUSÃO MIOCÁRDICA, E EXPERIÊNCIA INICIAL EM SERES HUMANOS.

### 6.1 DEMONSTRAÇÃO DE QUE A RETROPERFUSÃO RESTAURA A PERFUSÃO MIOCÁRDICA REGIONAL E PRESERVA O METABOLISMO DURANTE ISQUEMIA AGUDA ATRAVÉS DA TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PÓSITRONS.

Vários experimentos têm demonstrado que a retroperfusão sincronizada melhora a função miocárdica e diminui o tamanho do infarto após oclusão arterial coronária aguda (39,64,88,238-240). Aumento da perfusão miocárdica tem sido demonstrado "in vivo" através do uso da renografina (39), microesferas radioativas (130,241), angiografia digital por subtração (41), e também "in vitro" com azul de monastral (242). Por outro lado, aumento do fluxo miocárdico nutritivo a nível celular nunca havia sido documentado, gerando especulações no sentido de que a melhora observada durante a retroperfusão poderia resultar do desenvolvimento de circulação colateral, e não da retroperfusão propriamente dita. Através do uso da tomografia por emissão de pósitrons, utilizando traçadores difusíveis do fluxo sanguíneo e da atividade metabólica do miocárdio, é possível avaliar estas funções a nível celular com imagens (243-247). Além disso, a meia-vida física curta dos isótopos emissores de pósitrons permite estudos repetitivos durante as experiências, fazendo desta técnica um método bastante apropriado para examinar o conceito de retroperfusão miocárdica e o seu mecanismo de ação.

Com este conceito em mente, O' Byrne e colaboradores (129) recentemente avaliaram, através de experiências em cães, a retroperfusão miocárdica nos seguintes aspectos: 1) a liberação retrógrada de um traçador de fluxo difusível para o miocárdio isquêmico; 2) a captação de glicose pelo

miocárdio isquêmico durante a retroperfusão; e 3) a correlação destes achados com o efeito da retroperfusão sobre o tamanho do infarto.

Os autores utilizaram tomografia por emissão de pósitrons obtendo imagens 3 minutos após injeção anterógrada ou retrógrada de rubídio-82 (Rb-82) ou nitrogênio 13(N-13) amonial, ambos traçadores do fluxo sanguíneo, e 45 minutos após injeção intravenosa de desoxiglicose F-18 (um traçador do metabolismo de glicose). Antes da oclusão arterial coronária, o traçador de fluxo e as microesferas radioativas foram injetadas concomitantemente no átrio esquerdo, para definir o fluxo sanguíneo miocárdico anterógrado na situação basal (controle pré-oclusão coronária). Quinze minutos após oclusão, o traçador de fluxo e as microesferas radioativas foram novamente injetadas para delinear o fluxo anterógrado para a área de risco através das imagens tomográficas, e também para medir fluxo miocárdico regional através das microesferas. Trinta minutos após a oclusão arterial, retroperfusão sincronizada foi iniciada no grupo tratado. O fluxo retrógrado foi então avaliado com um traçador para emissão de pósitrons administrado diretamente no circuito da bomba de retroperfusão.

As imagens foram avaliadas em termos da captação miocárdica dos traçadores de fluxo e de utilização de glicose. As áreas de risco foram definidas como áreas de captação reduzida de rubídio-82. Durante a retroperfusão, estas áreas foram definidas como aquelas demonstrando retenção de rubídio. A captação de desoxiglicose F-18 nas áreas de risco foi comparada ao miocárdio normal, e classificada como menor que, igual, ou maior que o miocárdio não-isquêmico. Os valores médios das zonas de risco foram expressos como índice das zonas normais, tanto para fluxo quanto para atividade metabólica, comparando as imagens pós-oclusão com aquelas obtidas durante a retroperfusão.

Os resultados principais deste estudo estão ilustrados nas Figuras 39, 40 e 41, mostrando exemplos representativos dos achados em cães tratados com retroperfusão e em cães não-tratados.

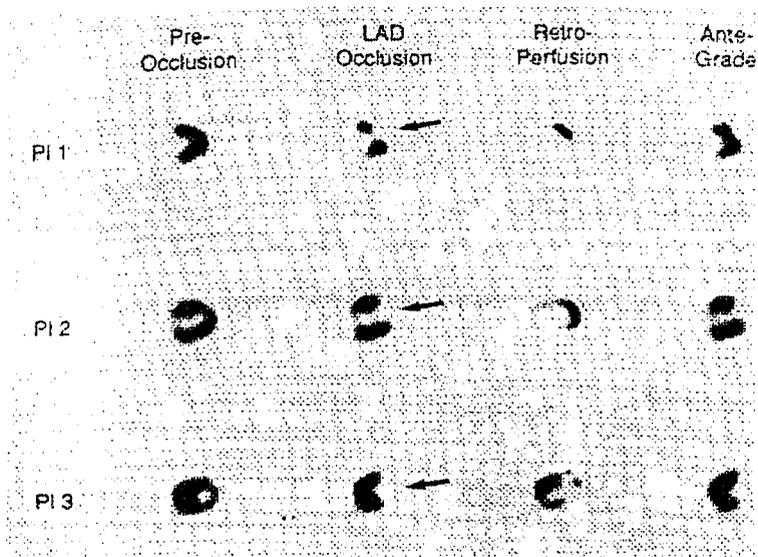


Figura 39. Fluxo de retroperusão (retroperfusion) avaliado com PET (tomografia por emissão de pósitrons) em 3 planos de corte: na base do ventrículo esquerdo (PI1), na região médio-ventricular (PI2) e no ápice do VE (PI3). As imagens são mostradas no período pré-oclusão (pre-occlusion), após oclusão da artéria descendente anterior (LAD occlusion), no período de retroperusão (3ª coluna vertical) e após injeção anterógrada (antegrade) de rubídio-82 (aos 85 minutos de oclusão). A coluna da esquerda mostra perfusão miocárdica normal, a 2ª coluna vertical de imagens mostra as áreas de risco no ventrículo esquerdo (setas), e a 3ª coluna mostra retenção de rubídio nas áreas isquêmicas após retroperusão, principalmente nos planos 1 e 2. A 4ª coluna mostra que não houve redução das áreas de risco aos 85 minutos de oclusão (compare com as imagens da 2ª coluna).

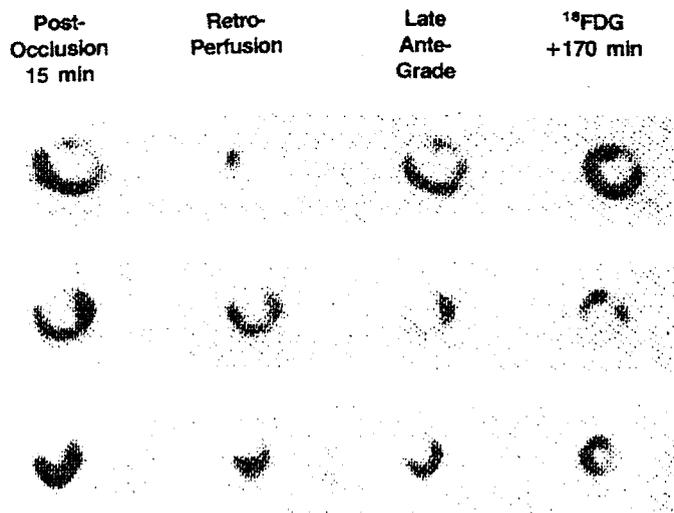


Figura 40. Captação de desoxiglicose F-18 (FDG) num cão do grupo tratado, em 3 planos do ventrículo esquerdo, conforme mostrado na Figura 39. Aos 15 minutos após oclusão coronária (post-occlusion, 1ª coluna de imagens) observa-se as áreas de risco (áreas escuras, com avidez por FDG); após retroinfusão de rubídio-82 (retroperfusion, 2ª coluna de imagens) observa-se captação deste agente nas áreas de risco. A 3ª coluna mostra injeção de um outro traçador de fluxo (nitrogênio 13-amonia) por via anterógrada mais tardiamente (late antegrade), demonstrando uma área de risco similar àquela mostrada na 1ª coluna de imagens; a 4ª coluna de imagens após injeção de FDG, aos 170 minutos, mostra captação de glicose nas áreas de risco, indicando viabilidade miocárdica nesta região devido ao uso da retroperusão.

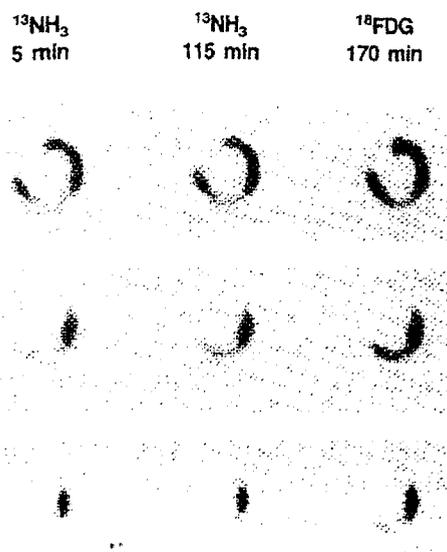


Figura 41. Captação de desoxiglicose F-18 (FDG) num cão do grupo controle. Após oclusão da artéria descendente anterior, a área de risco é evidente nos três planos (mostrados na mesma disposição das Figuras anteriores), da base ao ápice do ventrículo esquerdo, conforme mostra a primeira coluna de imagens obtidas com o traçador de fluxo nitrogênio 13-amonia ( $^{13}\text{NH}_3$ ). Aos 115 minutos de oclusão coronária (coluna de imagens central) não há alteração nas áreas de risco (áreas sem captação do traçador). Aos 170 minutos de oclusão, não há captação de desoxiglicose nas áreas de risco, indicando provável dano miocárdico irreversível nestas regiões (coluna de imagens à direita).

Este estudo indica, pela primeira vez, que a retroperfusão resulta numa melhora do fluxo nutritivo para o miocárdio isquêmico. Conforme evidenciado pelos resultados obtidos com desoxiglicose F-18, o aumento do fluxo sanguíneo miocárdico foi o responsável pelo aumento da atividade metabólica no miocárdio isquêmico nos cães tratados com retroperfusão. Isto, por outro lado, deve ter retardado a progressão de isquemia para necrose, como de fato foi demonstrado pelos valores de tamanho de infarto no grupo tratado. Este estudo foi idealizado para averiguar vários conceitos relacionados ao mecanismo da retroperfusão. O primeiro deles foi em relação a visualização tomográfica da melhora na reperfusão miocárdica sob condições de fluxo retrógrado e pressão venosa coronária compatíveis com o uso clínico do sistema. Um outro aspecto importante do estudo foi a possibilidade de averiguar o tamanho da área de risco e sua estabilidade ao longo dos experimentos, utilizando para isto uma avaliação mais tardia (aos 120 minutos pós-occlusão coronária) da área de risco com o traçador de fluxo, e comparando-a aos valores obtidos com injeção de microesferas radioativas. O próximo ponto importante do estudo foi a análise da atividade metabólica nas áreas de risco, utilizando-se a desoxiglicose F-18 como agente traçador, já que

o miocárdio isquêmico do cão capta preferencialmente este agente (246,247). Para confirmar de fato que as zonas de risco estavam mesmo isquêmicas, áreas de depleção de glicogênio no miocárdio foram também avaliadas.

A retroperfusão sincronizada pode ser avaliada neste estudo em termos do seu potencial para aumentar a perfusão miocárdica nas áreas isquêmicas. Com a adição de um traçador de fluxo (rubídio-82) ao sistema de retroperfusão, foi possível evidenciar captação deste agente no miocárdio isquêmico após oclusão da artéria descendente anterior. Ao contrário de outros traçadores de fluxo, mesmo as microesferas radioativas, a captação de um traçador emissor de pósitrons indica aprisionamento metabólico do agente nas áreas de interesse. A captação maior deste agente nas áreas de risco, comparado às áreas normais, demonstra que a retroperfusão foi a responsável pelo aumento do fluxo nas áreas isquêmicas. O desenvolvimento de fluxo colateral durante os experimentos não foi o responsável por este aumento de fluxo, já que o fluxo anterógrado medido através de microesferas radioativas não se modificou ao longo dos experimentos.

O aumento da captação de desoxiglicose F-18 relacionado a redução do fluxo sanguíneo identifica áreas de miocárdio viável (não necrótico), conforme demonstrado em estudos anteriores (246-247). Um tecido sujeito a isquemia profunda, mas ainda demonstrando aumento de captação de glicose, pode ser identificado pela captação maior de glicose nestas áreas, em relação a sua captação no tecido não-isquêmico. Por outro lado, redução da captação de glicose em relação ao fluxo sanguíneo implica em necrose tecidual (247). Estas informações, já conhecidas de estudos anteriores, foram utilizadas para identificar miocárdio viável e não-viável por ocasião destes experimentos com oclusão arterial coronária aguda e retroperfusão sincronizada.

Embora a utilização de glicose na região subepicárdica tenha sido similar em ambos os grupos, a captação de glicose na região subendocárdica foi maior no grupo da retroperfusão, comparado ao grupo controle. O fluxo subepicárdico, na verdade, possivelmente foi mantido em níveis razoáveis através de fluxo colateral. Já na região subendocárdica, a redução de fluxo foi

severa e similar em ambos os grupos aos 15 minutos pós-oclusão coronária, permanecendo em níveis baixos aos 120 minutos de oclusão, suficiente para fazer com que grande parte desta região se tornasse necrosada no grupo controle. A diferença é que a captação de desoxiglicose F-18 no grupo da retroperfusão foi muito mais alta que no grupo controle, demonstrando alta atividade metabólica e viabilidade miocárdica no grupo tratado. De fato, o percentual de necrose em relação a área de risco no grupo da retroperfusão foi de apenas 18,4%.

A coloração tecidual com cloreto de trifetil tetrazólio permitiu confirmar que o percentual de necrose em relação a zona de risco foi muito menor no grupo da retroperfusão, em relação ao grupo controle. Embora isto tenha sido demonstrado em vários estudos anteriores (88), neste estudo pudemos confirmar este fato em relação a fluxo colateral, afastando a hipótese de redução da necrose por desenvolvimento de colaterais durante o período de oclusão coronária.

Em resumo, este estudo de O'Byrne e colegas em cães submetidos a oclusão aguda da artéria coronária descendente anterior, e submetidos a retroperfusão sincronizada, demonstra, através da tomografia por emissão de pósitrons, e utilizando traçadores de fluxo, que este método aumenta a perfusão miocárdica nesta situação. Além disso, utilizando um traçador metabólico com PET, observou-se que a retroperfusão aumenta a viabilidade miocárdica, demonstrada através da captação de desoxiglicose F-18 e diminuição do tamanho do infarto nos cães tratados.

## 6.2 RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA DO MIOCÁRDIO: ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS DE SEGURANÇA E EFICÁCIA NO TRATAMENTO DA ISQUEMIA MIOCÁRDICA AGUDA.

Este estudo, conduzido por Drury e colaboradores (265), teve o propósito de testar a segurança e eficácia do método com o novo protótipo de bomba e com os novos catéteres de retroperfusão, antes de iniciar os primeiros estudos clínicos em seres humanos.

O estudo foi feito em cães, onde a artéria coronária descendente anterior foi ocluída proximalmente ao seu primeiro ramo diagonal, e mantida por um período de 6 horas. O grupo controle não recebeu qualquer tratamento, enquanto que os cães tratados receberam retroperfusão no período de 30 minutos até 6 horas pós-oclusão arterial coronária. Medidas hemodinâmicas foram obtidas antes da oclusão, e a intervalos regulares após a oclusão, bem como avaliação hematológica completa e estudos histológicos e anatomopatológicos. Além disto, foi feita avaliação macro e microscópica de todo o sistema de veias coronárias e seio coronário, a fim de detectar um possível dano endotelial, hemorragia de parede, ou outras alterações possíveis nas veias coronárias, em decorrência da retroperfusão e pressão no sistema venoso coronário.

O conteúdo de água no miocárdio, uma medida indireta de edema miocárdico intersticial, foi também avaliado após obtenção de amostras de aproximadamente 1 g de miocárdio, obtidas das regiões isquêmicas e não-isquêmicas.

Os valores de contagem de eritrócitos, hematócrito, contagem de leucócitos e plaquetas foram normais e similares entre os grupos, mesmo após 5 horas e meia de retroperfusão no grupo tratado. Entretanto, houve um pequeno grau de hemólise em ambos os grupos, evidenciado por um leve aumento nos níveis de hemoglobina livre no plasma aos 360 minutos após

oclusão arterial coronária; este aumento foi mais significativo no grupo da retroperfusão, conforme demonstrado na Tabela 25.

**Tabela 25.** Achados hematológicos.

Tempo pós-oclusão	HT		GBS x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup>		Plaquetas x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup>		Hb livre µg/dl	
	CONT	SRP	CONT	SRP	CONT	SRP	CONT	SRP
0	41±7	40±2	7±5	8±6	224±76	173±65	17±17	36±27
6 hs	37±8	40±7	16±3	10±5	210±106	196±49	98±36	221±114*

Valores médios e desvio padrão;

\* p<0,05 em relação ao grupo controle;

CONT = grupo controle;

SRP = retroperfusão diastólica sincronizada;

HT = hematócrito;

GBS = glóbulos brancos sanguíneos;

Hb = hemoglobina.

O conteúdo de água do miocárdio foi maior nas regiões isquêmicas, em ambos os grupos de cães. Não houve, entretanto, diferenças significativas entre os dois grupos, tanto nas regiões normais como nas regiões isquêmicas. Estes achados estão resumidos na Tabela 26.

**Tabela 26.** Conteúdo de água do miocárdio (% peso seco/ peso úmido)

	Azul de Monastral	
	Positivo	Negativo
Controles	80,2±1,8	81,7±1,6
SRP	80,3±1,9	81,4±2,1

Valores são expressos em média e desvio padrão.

Controles = grupo não-tratado;

SRP = grupo tratado com retroperfusão sincronizada;

Azul de monastral positivo = áreas não-isquêmicas;

Azul de monastral negativo = áreas isquêmicas.

Hemorragias nas áreas subepicárdicas, superficialmente, foram observadas próximo ao seio coronário e veia cardíaca maior, tanto nos cães tratados com retroperfusão (4 de 9 cães, ou 44%) como nos cães não-tratados (4 de 8 cães, ou 50%). Hemorragias leves também foram observadas próximo a oclusão da artéria coronária descendente anterior; estas hemorragias foram leves, superficiais e foram observadas tanto nos cães tratados como nos cães não-tratados. Num dos cães tratados com retroperfusão observou-se um trombo microscópico aderido a parede do seio coronário. Não se observou dano importante na camada íntima do seio coronário ou das veias coronárias em nenhum dos animais.

Este estudo demonstra que a retroperfusão sincronizada do miocárdio, através das veias coronárias, pode ser utilizada com segurança e eficácia por um período de pelo menos 5 horas e meia após oclusão arterial coronária. Os estudos pós-morte não evidenciaram lesões significativas no seio coronário ou nas veias coronárias durante o procedimento. Não se verificou alterações importantes na íntima das veias coronárias, apesar da presença do catéter de retroperfusão e do fluxo da bomba. Em aproximadamente 50% dos cães, tanto no grupo tratado quanto no grupo controle, observaram-se pequenos pontos de hemorragia superficial em volta do local de oclusão na artéria descendente anterior, como próximo ao seio coronário. Isto, provavelmente, ocorreu por manipulação dos catéteres, já que foi observado nos dois grupos de cães. Num dos cães tratados com retroperfusão, observou-se um trombo microscópico no seio coronário, mas o mesmo não foi visto à inspeção visual do seio, e certamente não interferiria com a drenagem venosa coronária neste animal.

Não houve evidência de hemólise clinicamente significativa nos dois grupos de cães, mas algum grau de hemólise ocorreu em ambos os grupos, provavelmente relacionada ao uso de catéteres intravasculares relativamente calibrosos. O grau de hemólise foi um pouco maior no grupo da retroperfusão, como seria de esperar, mas isto não atingiu níveis fisiologicamente importantes, de acordo com os parâmetros estudados (248). Não se observou queda nos níveis de hematócrito em ambos os grupos, e não se observou alterações nas contagens de plaquetas, eritrócitos ou leucócitos.

Em resumo, os autores concluíram que a retroperfusão sincronizada do miocárdio parece ser um tratamento eficiente da isquemia miocárdica aguda, e também demonstram que o protótipo desenvolvido para aplicação clínica, tanto da bomba quanto do catéter, são equipamentos seguros. Com estes achados, os autores acreditam que a avaliação clínica da retroperfusão esteja autorizada, já que não foram observados para-efeitos fisiologicamente significativos neste estudo, como também em estudos precedentes.

### 6.3 ESTUDOS CLÍNICOS PRELIMINARES DE SEGURANÇA E EFICÁCIA DA RETROPERFUSÃO SINCRONIZADA DURANTE ANGIOPLASTIA CORONÁRIA (PROTOCOLO 10).

Angioplastia coronária é um tratamento eficiente para pacientes com estenose arterial coronária e angina de peito, mas vários pacientes desenvolvem problemas hemodinâmicos em decorrência da obstrução abrupta do fluxo coronário que ocorre durante o procedimento, além da possibilidade de arritmias (249-251). Estas alterações isquêmicas são de importância fundamental em pacientes onde a área miocárdica a se tornar isquêmica é grande, e também naqueles pacientes a serem submetidos a angioplastia, e que já apresentam outras áreas miocárdicas com disfunção contrátil prévia. Além disto, oclusão abrupta da artéria coronária recém dilatada ocorre em 4 a 8 % dos pacientes submetidos a angioplastia (252). Esta complicação, com relativa freqüência, é tratada com cirurgia coronária, a qual está associada a altos índices de mortalidade nesta situação especial(253,254).

Estas alterações isquêmicas durante a angioplastia podem ser contornadas usando uma variedade de técnicas, como a infusão de fluorocarbono oxigenado distalmente ao ponto de oclusão (255,256), ou de catéteres de autoperfusão, que permitem um certo fluxo distal ao ponto de oclusão durante a insuflação do balonete do catéter de angioplastia (257,258). Estas técnicas podem ser úteis em alguns casos, mas tem suas limitações (259). Outras técnicas também têm sido propostas para manter a situação hemodinâmica do paciente mais estável durante a angioplastia, como é o caso do uso de balão intra-aórtico (260), "bypass" cardiopulmonar percutâneo femoro-femoral (261), e uma bomba especial de assistência ventricular esquerda chamada "hemopump"(262). Estas técnicas podem, de fato, melhorar as condições hemodinâmicas do paciente, mas elas não oferecem aumento do fluxo ou perfusão coronária diretamente nas regiões isquêmicas e, portanto, têm também uma série de limitações, especialmente relacionadas a persistência da isquemia miocárdica.

A retroperfusão sincronizada é uma técnica que, primariamente, aumenta a perfusão miocárdica por via retrógrada, e, portanto, tem várias vantagens nesta situação especial, ou seja, isquemia miocárdica aguda induzida por oclusão arterial coronária durante ou após procedimentos de angioplastia. Devido ao fato de a perfusão ser feita por via retrógrada e não anterógrada, não há inconvenientes relacionados com colocação de catéter através da obstrução arterial coronária, o que freqüentemente não é possível de ser feito, como em casos de oclusão abrupta pós angioplastia. Além disto, se o paciente tiver obstruções seqüenciais na mesma artéria a ser dilatada, ou leito distal ruim, ou mesmo obstruções severas em outras artérias, a retroperfusão irá se processar da mesma forma. Mais ainda, em casos de oclusão coronária abrupta pós angioplastia, onde não se consegue reabrir a artéria dilatada, o paciente pode aguardar o preparo da equipe cirúrgica com manutenção da retroperfusão neste período crítico, evitando-se necrose miocárdica.

O propósito do presente estudo é de determinar a segurança e a eficácia da retroperfusão sincronizada neste modelo de isquemia no ser humano, ou seja, obstrução arterial coronária durante angioplastia.

## MÉTODOS.

O estudo inclui 43 pacientes portadores de estenose severa (> 70 % do diâmetro) da artéria descendente anterior, e que tinham indicação para angioplastia por angina crônica estável. Estes pacientes foram selecionados no caso em que o cardiologista acreditava que a obstrução da artéria descendente anterior pudesse trazer deterioração hemodinâmica súbita devido a área de suprimento sangüíneo grande desta artéria. Todos os pacientes assinaram um documento de consentimento previamente preparado pelo Hospital e com aprovação da agência reguladora FDA.

**Angioplastia coronária.** Angioplastia foi feita da forma rotineira por operadores altamente treinados para este procedimento. Os efeitos de pelo menos duas insuflações do balonete foram estudados em cada paciente, sendo

que a retroperfusão foi aplicada durante insuflações alternadas, cuja ordem foi randomizada. Em alguns pacientes a primeira insuflação foi curta (30 segundos), e feita justamente para assegurar o posicionamento correto do balonete no segmento coronário a ser dilatado. Estas insuflações mais curtas não foram estudadas.

Os pacientes receberam inicialmente uma dose de heparina para manter o tempo de coagulação ativado entre 360 e 480 segundos. Medidas hemodinâmicas, incluindo pressão aórtica, pressão venosa coronária e frequência cardíaca, além de uma derivação eletrocardiográfica precordial, foram monitorizadas continuamente e registradas em papel (25 mm/s) num polígrafo tipo Electronics for Medicine (modelo VR-12).

O tempo de início da angina após insuflação do balonete foi determinado em todas as insuflações, ou seja, naquelas em que houve ativação da retroperfusão, e também nas insuflações não tratadas com retroperfusão. A severidade da dor precordial foi avaliada semi-quantitativamente usando uma escala de 0 a 4 (0 = sem dor; 1 = dor leve; 2 = dor moderada; 3 = dor severa; 4 = dor intolerável). As alterações do segmento ST foram medidas 0,06 segundos após o ponto j e expressas em termos de variação absoluta das medidas obtidas pré-angioplastia ou pré-insuflação do balonete.

**Medidas de função ventricular.** Ecocardiografia bidimensional foi utilizada para avaliação da função contrátil regional, e as imagens gravadas em sistema VHS para posterior análise. Ecocardiogramas utilizando as vistas apicais de 2 e 4 câmaras foram obtidos com um Ecocardiógrafo ATL modelo Mark VII. As posições do transdutor, ajuste de contraste e profundidade foram otimizados durante obtenção das imagens controle (pré-angioplastia), e mantidos durante o estudo. As imagens foram digitizadas do vídeo-tape para um formato de cine repetitivo do batimento cardíaco, escolhido como o mais adequado para posterior análise, utilizando para isto um sistema de análise computadorizada tipo Microsonics. Devido ao fato de a duração das insuflações tratadas terem tempos diferentes (as não-tratadas foram mais breves), as imagens obtidas durante as insuflações tratadas foram pareadas

com as não tratadas, a fim de analisar a função contrátil do ventrículo esquerdo após um tempo de oclusão similar entre as insuflações. Para esta análise, foi utilizado o método da linha central (centerline), descrito por Jaffe e colaboradores (256). Este método permite a avaliação da severidade e também da extensão da disfunção ventricular; esta última é estimada simplesmente contando o total de cordas (ou raios) afetados dentre o total de 100 cordas dispostas ao longo do perímetro ventricular esquerdo. A severidade neste estudo foi avaliada como o percentual de encurtamento nas 10 cordas contíguas mais afetadas. A fração de ejeção global do ventrículo esquerdo foi calculada utilizando-se a regra de Simpson modificada (62). A análise das imagens foi feita por um operador alheio aos resultados dos estudos.

**O Sistema de retroperfusão.** Em todos os pacientes, um guia tamanho 9F foi introduzido percutaneamente na veia jugular interna, para posterior passagem do catéter de retroperfusão, seguido da introdução de um guia tamanho 8F em cada uma das artérias femorais.

O sistema de retroperfusão consiste numa bomba disposta num console eletrônico (Figura 42), um catéter especial para retroperfusão (Figura 43) e um catéter arterial. O sangue arterial é retirado da artéria femoral através de um catéter tamanho 8F de 25 cm de comprimento, com múltiplos furos laterais e um distal. Este catéter é introduzido pelo guia colocado na artéria femoral e então conectado ao porto de entrada do cassete descartável da bomba, o qual é acomodado dentro do console da bomba de retroperfusão. O porto de saída deste cassete é então conectado ao porto de infusão do catéter de lúmen triplo de retroperfusão, o qual é um catéter 8,5F, radiopaco, apresentando um balonete inflável a 1 cm da sua porção distal. O segundo lúmen deste catéter é conectado a um cilindro de gás com dióxido de carbono que, ativado pela onda R do sinal eletrocardiográfico, insufla o balonete em diástole (diâmetro máximo do balonete insuflado é de 10 mm). O terceiro lúmen do catéter de retroperfusão é usado para monitorizar a pressão venosa coronária; este porto é conectado a um transdutor de pressão, sendo que o fluxo da bomba de retroperfusão é ajustado gradualmente até que esta pressão

atinja um valor de pico de 60 mmHg (ou 40 mmHg de pressão média na veia coronária). Durante a sístole, o balonete é desinsuflado por vácuo, permitindo a drenagem venosa coronária em volta do balonete. O fluxo da retroperfusão pode ser ajustado no painel do controle eletrônico, variando de 5 em 5 ml, até o máximo de 250 ml por minuto.

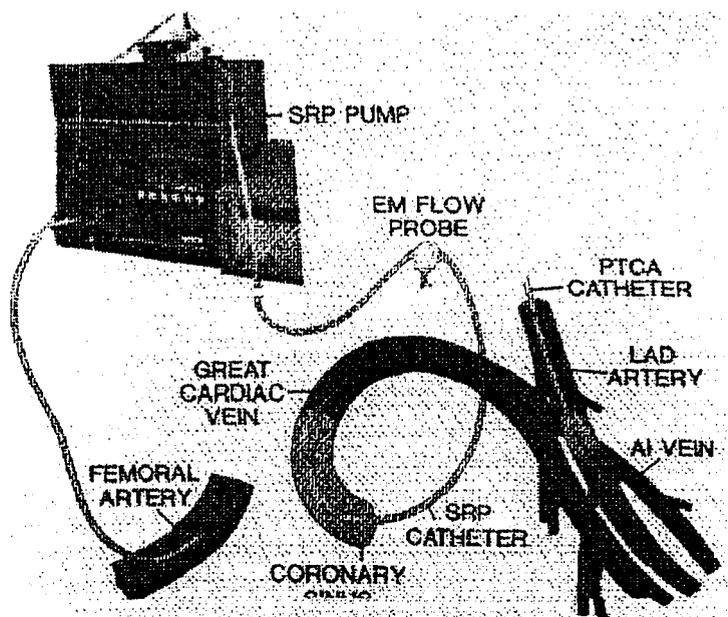


Figura 42. Apresentação esquemática da bomba de retroperfusão (SRP pump) sincronizada para uso clínico. O sangue arterial é obtido da artéria femoral (femoral artery) e desviado para a bomba para propulsão de sangue na veia cardíaca maior (great cardiac vein) através do cateter de SRP (SRP catheter), introduzido pelo seio coronário (coronary sinus). Em flow probe = detector de fluxo eletromagnético; PTCA catheter = cateter de angioplastia coronária; LAD artery = artéria descendente anterior; AI Vein = veia interventricular anterior.

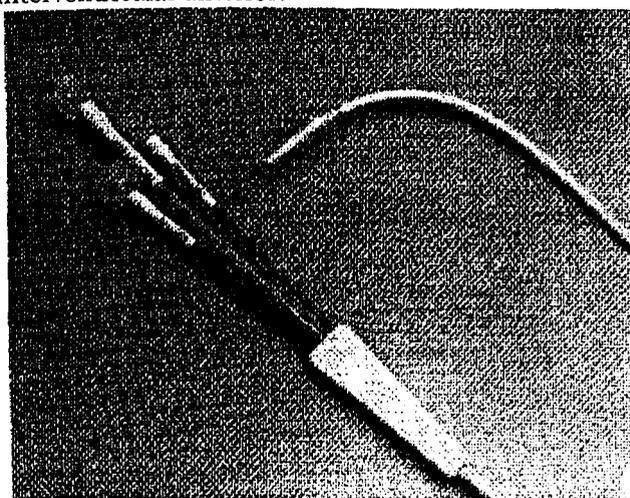


Figura 43. Cateter de retroperfusão de três lumens número 8.5F para uso clínico, mostrando a sua ponta com o balonete insuflado por gás.

A cateterização do seio coronário foi feita com cuidado, posicionando-se o catéter o mais distalmente possível na veia cardíaca maior (sempre distal a veia posterior do ventrículo esquerdo), certificando-se de que a ponta do catéter não estivesse encravada na veia cardíaca maior ou numa de suas tributárias. Uma injeção de contraste com venografia foi então feita após posicionamento ideal do catéter, e também para verificar se o balonete ocluía totalmente a veia coronária, a fim de evitar refluxo do sangue e ser retroperfundido (Figura 44).

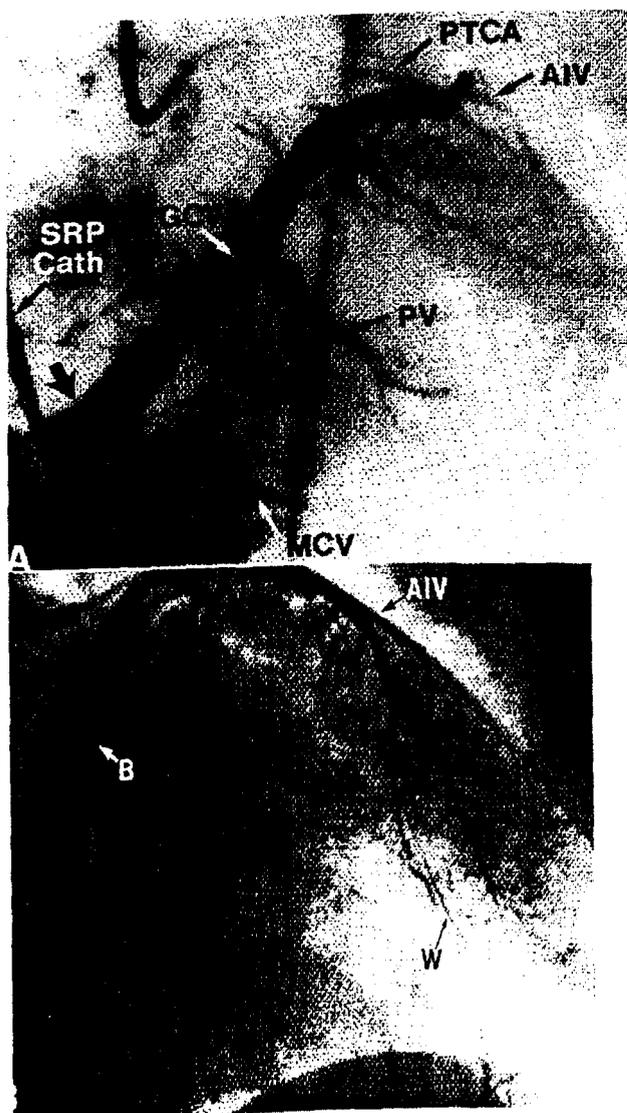


Figura 44. Venografias coronárias de dois pacientes durante angioplastia (PTCA) da artéria descendente anterior com suporte de retroperusão (SRP). A) injeção de contraste na veia cardíaca maior (GCV) com o catéter de retroperusão (SRP cath) em posição. Observa-se penetração do contraste mostrando as veias interventricular anterior (AIV), a veia posterior do ventrículo esquerdo

(PV) e a veia cardíaca média (MCV); estas duas últimas estão desenhadas devido a não-oclusão completa do catéter de SRP nesta injeção, evidenciando regurgitação de contraste para o seio coronário. B) injeção com penetração melhor do contraste devido a um melhor posicionamento do catéter de SRP (B), mostrando as veias interventriculares anteriores com maior nitidez (AIV); W = guia metálico para angioplastia no interior da artéria descendente anterior.

Análise Estatística. Todos os resultados são apresentados como valores médios e um desvio padrão. As alterações da situação de pre-angioplastia para a de angioplastia com o catéter-balão insuflado foram analisadas pelo teste t de Student para valores pareados, com duas ramificações, tanto para as variáveis hemodinâmicas como para a magnitude das alterações do segmento ST no eletrocardiograma e dados ecocardiográficos.

As comparações entre os grupos de injeções não tratadas ou tratadas com retroperfusão durante a angioplastia foram feitas com o teste t de Student para valores não-pareados, com exceção do tempo de início de dor precordial e a severidade da angina de peito, dados estes analisados pelo teste de Mann Whitney.

As alterações do segmento ST e angina foram então comparadas entre os grupos com análise tipo "chi-square".

## RESULTADOS.

Cateterização do seio coronário foi possível em 36 (84%) dos 43 pacientes, num tempo médio de 2,6 minutos (variação de 0,5 a 10 minutos), após colocação do catéter no átrio direito. Nos sete casos em que isto não foi possível, a veia jugular não pode ser cateterizada em 3, o catéter não pôde ser colocado no seio coronário em outros 3, e no sétimo caso houve infiltração de contraste na parede atrial direita, e o operador decidiu não continuar as tentativas de entubar o seio coronário. Um ecocardiograma posterior neste paciente não demonstrou quaisquer anormalidades. Dos 36 pacientes nos quais a colocação do catéter ocorreu sem problemas, em 6 deles o estudo não foi completado pelos seguintes motivos: em três pacientes a angioplastia coronária não foi possível por problemas técnicos; um paciente desenvolveu fibrilação ventricular, que ocorreu após a primeira insuflação do balonete de angioplastia, e foi encaminhado para cirurgia coronária; em outros dois

pacientes não foi possível conseguir estabilidade do catéter de retroperfusão durante o procedimento.

Portanto, a técnica de retroperfusão foi possível em 34 dos 43 pacientes (79 %), mas pelos motivos expostos acima, somente 30 pacientes completaram o protocolo. Estes pacientes foram submetidos a 128 insuflações do balão de angioplastia: 61 delas foram tratadas com retroperfusão e 67 serviram como controle. A média de duração das insuflações foi de 81 +/- 21 e de 73 +/- 18 segundos nos grupos de retroperfusão e controle, respectivamente ( $p < 0,001$ ). As características clínicas dos 30 pacientes estão colocadas na Tabela 27.

**Parâmetros hemodinâmicos.** A frequência cardíaca e a pressão diastólica não se alteraram significativamente durante a retroperfusão, mas a pressão arterial sistólica diminuiu significativamente durante as insuflações não tratadas (de 125 +/- 22 para 108 +/- 24 mmHg), e também durante as insuflações tratadas com retroperfusão (de 120 +/- 22 para 111 +/- 21 mmHg). A pressão de pico na veia coronária foi de 29 +/- 12 mmHg (variação de 6 a 59 mmHg) com retroperfusão, e 12 +/- 5 mmHg (variação de 4 a 26) sem retroperfusão ( $p < 0,01$ ). A pressão venosa coronária não se modificou em decorrência das insuflações do balonete durante a angioplastia.

**Angina pectoris.** Angina ocorreu em 40% das insuflações tratadas com retroperfusão e em 53% das insuflações não-tratadas. O tempo de início da dor anginosa foi de 53 +/- 31 segundos nas insuflações tratadas com retroperfusão e de 37 +/- 14s sem retroperfusão ( $p < 0,05$ ). A severidade da angina avaliada pelo método de score descrito foi de 0,8 +/- 1,0 com retroperfusão, e de 1,2 +/- 1,0 sem retroperfusão ( $p < 0,05$ ).

**Alterações do segmento ST.** Alterações do segmento ST iguais ou maiores que 0,1 mV ocorreram em 46% das insuflações com retroperfusão, mas a magnitude destas alterações foi menor com retroperfusão (0,11 +/- 0,14 mV) do que sem retroperfusão (0,16 +/- 0,17 mV), apesar da maior duração das insuflações com retroperfusão ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 27. Características clínicas dos 30 pacientes que completaram o protocolo do estudo.**

Pt nº	Idade/sexo	Peso (Kg)	História anterior			Sintomas	Medicação				Doenças associadas		Dados da cateterização cardíaca					Nº de inflações PTCA	
			IM	PTCA	CABG	SCC	NTG	BC	BB	AAS	DM	HAS	ACD	AC	ADA	TCE	FE(%)	Sem SRP	Com SRP
1	54/M	77				1		+								>55	2	1	
2	84/M	80	Ant			4	+	+								>55	2	1	
3	67/M	82		+		4		+							+	>55	3	3	
4*	64/M	91				3		+				+				>55	2	2	
5	52/F	36				4		+			+					>55	2	2	
6	60/M	85	Ant	+	+											35-55	2	2	
7	53/M	85	Inf			4	+	+			+	+			+	35-55	2	2	
8	53/M	75				4		+								>55	2	2	
9*	73/M	67		+		3		+			+				+	>55	1	1	
10	50/F	86		+		3		+			+	+				>55	1	1	
11	46/M	91		+		4									+	>55	1	1	
12	49/M	77				3	+									35-55	1	1	
13	50/M	82		+		3	+	+			+	+				>55	2	2	
14	48/M	81		+		3		+								>55	2	2	
15	62/M	78						+			+	+				>55	2	2	
16	56/M	90	Ant			4		+							+	>55	2	2	
17	63/M	80	Ant, Inf			2	+						+	Ocl		<35	2	2	
18	39/M	73				4		+							+	<35	3	2	
19	69/M	64				4					+	+			+	>55	3	4	
20	49/M	59				4									+	>55	2	2	
21	47/M	84				4										<55	2	2	
22	71/F	70			+	4	+	+			+	+			+	<35	3	3	
23	73/F	66	Inf		+	4	+				+	+			+	<35	4	2	
24	62/M	73				2		+							+	35-55	5	2	
25	68/M	75	Ant			4									+	35-55	2	2	
26	40/F	89				3	+	+							+	35-55	2	4	
27*	72/F	66	Ant			4	+	+			+	+			+	35-55	4	3	
28	42/M	89				2	+				+				+	35-55	2	2	
29	56/M	91				4	+	+			+				+	35-55	2	2	
30	75/F	63		+	+	4	+	+				+	+		+	<35	2	2	

\* = retroperusão (SRP) prolongada;

IM = infarto do miocárdio;

PTCA = angioplastia coronária;

CABG = cirurgia coronária;

SCC = Sociedade Cardiovascular do Canadá (angina);

NTG = nitroglicerina;

BC = bloqueadores de canais de cálcio;

BB = bloqueadores beta-adrenérgicos;

AAS = ácido acetil-salicílico;

DM = diabetes mellitus;

HAS = hipertensão arterial sistêmica;

ACD = artéria coronária direita (estenose > 70%);

AC = artéria coronária circunflexa (estenose > 70%);

ADA = artéria descendente anterior (estenose > 70%);

TCE = tronco de artéria coronária esquerda;

Sem SRP = insuflação do balonete de PTCA sem SRP;

Com SRP = insuflação do balonete de PTCA com SRP;

Ant = anterior;

Inf = inferior;

FE = Fração de ejeção do ventrículo esquerdo;

ocl = oclusão total.

**Ecocardiograma bidimensional.** Estes resultados estão resumidos na Tabela 28. Ecocardiogramas foram gravados em 23 dos 30 pacientes, enquanto que quantificação da função ventricular foi possível em 15 destes pacientes; em 8 pacientes, a qualidade da imagem não foi boa suficiente para esta quantificação. Além disto, em 2 pacientes do grupo controle não houve alterações isquêmicas durante a angioplastia. Portanto, a análise final dos ecocardiogramas refere-se a um total de 13 pacientes. A fração de ejeção global do ventrículo esquerdo diminuiu de  $51 \pm 13\%$  para  $43 \pm 8\%$  ( $p < 0,05$ ) durante a angioplastia com suporte de retroperfusão, comparado a uma redução de  $52 \pm 9\%$  para  $32 \pm 10\%$  nas insuflações não tratadas. Esta diferença na queda da fração de ejeção foi estatisticamente significativa ( $p < 0,01$ ) entre os grupos.

**Tabela 28.** Achados ecocardiográficos em 13 pacientes.

	Insuflação não-tratada		Insuflação tratada com SRP	
	Antes	Durante	Antes	Durante
<b>Função regional</b>				
Severidade AMP (%ER)	$1,6 \pm 1,6$	$-0,3 \pm 1,6^*$	$1,5 \pm 1,7$	$0,7 \pm 1,4^\dagger$
Extensão AMP (%VE)		$36 \pm 12$		$21 \pm 9^\ddagger$
<b>Função Global</b>				
Fração de ejeção VE (%)	$52 \pm 9$	$32 \pm 10^*$	$51 \pm 13$	$43 \pm 8^\ddagger$

\*  $p < 0,01$  vs antes

†  $p < 0,01$  vs não-tratadas

‡  $p < 0,05$

% ER = percentual de encurtamento

AMP = alteração de motilidade de parede

VE = ventrículo esquerdo

FE = fração de ejeção

Em termos de função miocárdica regional (Tabela 28), o encurtamento radial na região isquêmica diminuiu de  $1,5 \pm 1,7\%$  antes da angioplastia para  $0,7 \pm 1,4\%$  (hiposinesia leve) durante a angioplastia com retroperfusão, enquanto que nas insuflações não-tratadas esta diminuição da

função foi mais severa, de  $1,6 \pm 1,6 \%$  para  $-0,3 \pm 1,6\%$ , (discinesia), atingindo um valor estatístico importante ( $p < 0,01$ ). A diferença entre os grupos foi também significativa ( $p < ,001$ ). Em relação a extensão circunferencial das alterações contráteis, durante a angioplastia com suporte de retroperusão,  $21 \pm 9\%$  da circunferência ventricular esquerda apresentou diminuição contrátil importante, comparado a  $36 \pm 12\%$  nas insuflações não-tratadas ( $p < 0,01$ ). A Figura 45 mostra um exemplo num dos pacientes estudados.

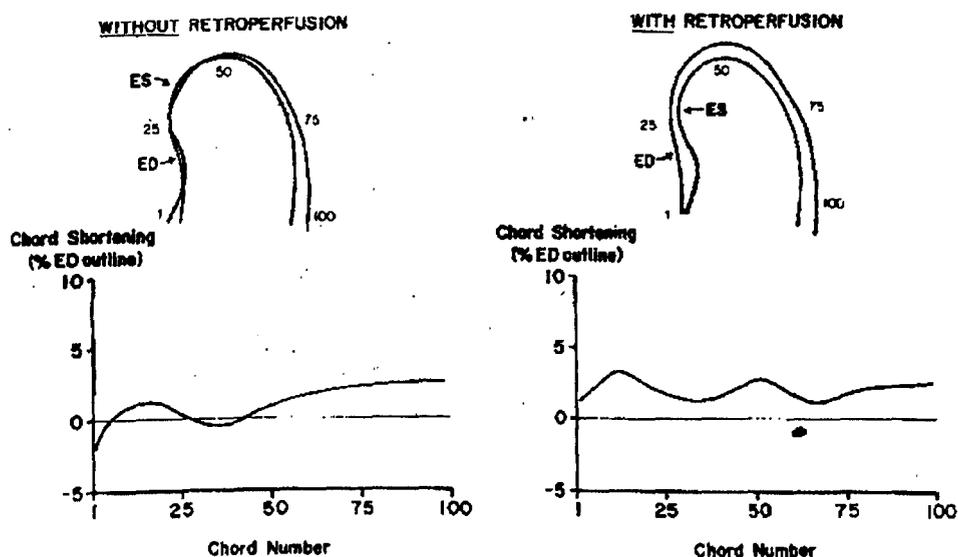


Figura 45. Exemplo de um paciente submetido a angioplastia (PTCA) sem retroperusão (without retroperfusion) e com suporte da retroperusão (with retroperfusion). Os contornos ecocardiográficos da vista de 4 câmaras do ventrículo esquerdo estão indicados, em diástole final (ED) e sístole final (ES). O encurtamento das cordas (chord shortening) em cada uma das 100 cordas (chord number) está indicado nas Figuras inferiores. Nota-se uma melhora na função contrátil regional nas regiões septais e apical do VE durante suporte com retroperusão.

**Hematologia.** A contagem média de eritrócitos, o hematócrito, hemoglobina, e contagem de plaquetas antes da retroperusão foram, respectivamente, 4,5 milhões/mm<sup>3</sup>, 40,4%, 13,7g/dl e 212.000/mm<sup>3</sup>; após retroperusão, estes valores foram, respectivamente, de 4,4 milhões/mm<sup>3</sup>, 39,8%, 13,3g/dl e 205.000/mm<sup>3</sup>. A hemoglobina livre plasmática aumentou de 5,6mg/dl antes da retroperusão para 21,7mg/dl após retroperusão, ao término do protocolo ( $p=0,25$ ). Nestes valores estão incluídos os 4 pacientes que receberam retroperusão por um período prolongado (ver abaixo).

**Complicações.** Não houve complicações maiores em decorrência da retroperusão. Efeitos adversos menores incluíram fibrilação atrial transitória

em 2 pacientes, hematoma no local de inserção do catéter na veia jugular interna em 4 pacientes, e infiltração da parede atrial direita com contraste em um paciente. Todas estas complicações resolveram completamente sem tratamento específico.

**Retroperfusão em casos de angioplastia complicada.** Em quatro pacientes, foi necessário manter a retroperfusão por períodos prolongados, devido a oclusão abrupta da artéria coronária em 3 pacientes e angina intolerável em um dos pacientes durante a angioplastia. A descrição mais detalhada destes 4 casos está colocada a seguir.

## CASO CLÍNICO N.1

Um homem branco, de 64 anos, apresentou angina de esforço progressiva associada a uma lesão obstrutiva de aproximadamente 95% da artéria descendente anterior, envolvendo também o primeiro ramo septal. Cinco minutos após o término da angioplastia com suporte de retroperfusão, o paciente desenvolveu dor precordial súbita, hipotensão arterial severa e bloqueio atrioventricular completo; o ecocardiograma neste momento evidenciou hipocinesia difusa severa do ventrículo esquerdo. Nitroglicerina intracoronária, marca-passo ventricular direito, e infusão de dopamina foram administrados e não revertem a situação; o paciente rapidamente evoluiu para choque cardiogênico por obstrução total de artéria descendente anterior no local da angioplastia. Neste momento, o catéter de retroperfusão foi reposicionado e retroperfusão sincronizada foi iniciada, com o intuito de manter a viabilidade do miocárdio. Enquanto a equipe cirúrgica se preparava para realização de revascularização coronária, dentro de poucos minutos o paciente teve alívio da dor, a pressão arterial sistólica estabilizou-se em 90-100 mmHg, e o ecocardiograma mostrou uma melhora sensível da função global e regional do ventrículo esquerdo. O paciente foi mantido em retroperfusão por um período de 2,5 horas, enquanto foram feitas novas tentativas de desobstrução da artéria descendente anterior, sem sucesso. O paciente foi então submetido a cirurgia coronária, não teve complicações pós-operatórias, e teve alta hospitalar com uma fração de ejeção de 61%, feita com ventriculografia radioisotópica. A inspeção cirúrgica do seio coronário e das veias tributárias deste paciente não revelou quaisquer anormalidades.

## CASO CLÍNICO N.2

Um homem de 73 anos, diabético, hipertenso, e com história clínica de infarto do miocárdio prévio entrou no serviço de emergência com dor precordial. O eletrocardiograma mostrou bloqueio completo do ramo direito, e a coronariografia mostrou estenose de 30% do tronco da coronária esquerda e estenoses críticas (> 70 %) dos ramos descendente anterior e circunflexo proximal, além de uma lesão proximal da artéria coronária direita. O paciente foi submetido a angioplastia, com suporte de retroperfusão, sendo que houve

oclusões intermitentes das artérias descendente anterior e da circunflexa durante o procedimento. Retroperfusão foi mantida durante 2 horas neste paciente, até que ambas as artérias pudessem ser mantidas abertas e estáveis, o que foi conseguido após este período, com lesões residuais de 30 a 40 % nas artérias. O paciente acabou morrendo no sétimo dia pós-angioplastia por fibrilação ventricular. A autópsia revelou um infarto recente no território da artéria circunflexa; o exame do seio coronário e das veias coronárias não mostrou anormalidades.

### CASO CLÍNICO N.3

Uma mulher diabética, de 72 anos, com hipertensão arterial e insuficiência cardíaca congestiva, entrou no Hospital com angina instável e alterações isquêmicas na parede ântero-lateral ao eletrocardiograma. A cinecoronariografia mostrou lesões obstrutivas de mais de 90% nas artérias descendente anterior e circunflexa, com lesões seqüenciais acima de 50% na artéria coronária direita. A angioplastia com suporte de retroperfusão foi indicada, e a paciente apresentou dissecação do tronco da coronária esquerda durante o procedimento. A paciente foi então mantida em retroperfusão por um período de 7 horas, até estabilização do quadro isquêmico agudo, quando então foi realizada cirurgia coronária. Não se observou quaisquer alterações à inspeção do seio coronário ou veias coronárias durante a cirurgia nesta paciente, como também não se evidenciou presença de necrose miocárdica. Após 1 ano de cirurgia, a paciente encontrava-se assintomática, e o eletrocardiograma mostrou ausência de onda R em derivação V1 e ondas T negativas em V4 a V6.

### CASO CLÍNICO N.4

Um homem de 62 anos de idade foi admitido ao Hospital com angina instável. A coronariografia mostrou 2 lesões curtas, seqüenciais, da artéria descendente anterior, com obstruções acima de 90% do lúmen arterial. Durante a angioplastia com suporte de retroperfusão, o paciente referiu dor precordial intensa com a simples passagem do guia metálico através da lesão; com o início da retroperfusão, o paciente teve alívio da dor, o que também

ocorreu durante as 13 insuflações seguidas do balonete do catéter de angioplastia. Este paciente não foi incluído no protocolo, pois não suportava as insuflações controle sem o uso da retroperfusão, o que demonstra a eficácia do método para prevenção da isquemia neste caso. Devido ao fato de repetidas insuflações não terem desobstruído a artéria, o paciente foi operado e encontrava-se assintomático 2 anos após a cirurgia.

Os quatro casos clínicos acima descritos servem para ilustrar, primeiramente, a segurança do método, particularmente em relação a dano tecidual no sistema venoso coronário, e em situações de uso prolongado da retroperfusão. Além disto, mostra a eficácia do método no alívio da isquemia miocárdica naqueles pacientes.

## DISCUSSÃO.

Neste estudo, em 30 pacientes submetidos à angioplastia coronária com suporte de retroperfusão, demonstramos que o uso desta técnica é factível durante a angioplastia de alto risco, sendo um método seguro e também eficaz para alívio da isquemia miocárdica induzida durante o procedimento. Além disto, a retroperfusão foi efetiva na reversão de choque cardiogênico num paciente, e permitiu estabilização da isquemia miocárdica em casos complicados.

**Segurança do método.** Há três pontos importantes em relação a segurança do método: 1) A segurança relacionada ao cateterismo do seio coronário propriamente dito; 2) Os efeitos da retroperfusão sobre o sistema venoso coronário; 3) Os efeitos da retroperfusão sobre os elementos ou células sanguíneas.

Cateterismo do seio coronário tem sido usado há anos para medidas de fluxo sanguíneo coronário (263,264), e também para estudos eletrofisiológicos invasivos, não sendo uma técnica associada a complicações freqüentes. No presente estudo, os pequenos hematomas encontrados no local de punção de veia jugular provavelmente poderiam ter sido evitados utilizando-se a veia braquial esquerda. Entretanto, houve resolução rápida

destes hematomas, sem necessidade de tratamento específico ou de transfusão sanguínea. Fibrilação atrial ocorreu em poucos casos, em decorrência de irritação da parede atrial, e também desapareceu espontaneamente e sem causar alterações hemodinâmicas. Num dos pacientes, o dano na parede atrial direita causou retenção de contraste local; neste paciente a retroperfusão não foi ativada, e não houve complicações posteriores.

Os efeitos da retroperfusão sincronizada sobre o seio coronário e veias coronárias têm sido estudados exaustivamente em animais e também em seres humanos (32-41,150-157,265). Gore e colaboradores notaram pequenas lesões no seio coronário em 3 pacientes e também um trombo microscópico num caso, num estudo prolongado (até 28 horas) de retroperfusão em pacientes com angina em repouso (40). Estes pacientes necessitaram cirurgia coronária posteriormente, ocasião em que o seio coronário foi inspecionado. Estes resultados coincidem com os achados do presente estudo, onde o seio coronário foi visualizado diretamente durante a cirurgia em três pacientes, e durante a necrópsia num paciente. O seio coronário estava normal em três pacientes e num deles havia dano superficial leve.

Estudos anteriores em animais indicam que dano importante no sistema venoso ocorre quando a pressão média na veia coronária ultrapassa 40 mmHg (ou 60 mmHg de pressão de pico). No presente estudo, estas pressões foram de 13 +/- 6 e de 29 +/- 12 mmHg, respectivamente. A bomba de retroperfusão está equipada com um dispositivo de segurança que aborta o mecanismo de retroperfusão quando as pressões ultrapassam estes limites.

No presente estudo, também pudemos confirmar achados de estudos precedentes que não demonstraram quaisquer alterações importantes nos eritrócitos, leucócitos ou plaquetas, e também nos níveis da hemoglobina livre no plasma (265). Portanto, podemos dizer que este estudo confirma a segurança do método da retroperfusão, pela ausência de alterações morfológicas, hemodinâmicas, eletrofisiológicas e hematológicas nos pacientes estudados.

**Otimização da técnica.** Estudos anteriores sugerem que fluxos maiores de retroperfusão e também maiores pressões no sistema venoso seriam necessários para otimizar a retroperfusão e evitar desvios do sangue retroperfundido para regiões não isquêmicas (266). Por isso, o sistema foi melhorado permitindo fluxos de até 250 ml/minuto na bomba de retroperfusão. No presente estudo, observou-se uma correlação direta entre fluxo de retroperfusão e pressão venosa coronária ( $p < 0,01$ ). Na verdade, nos três pacientes nos quais a retroperfusão foi ineficaz, a ponta do catéter de retroperfusão estava muito próxima ao seio coronário, e a venografia demonstrou penetração muito pobre do contraste nestes casos. Portanto, a eficácia parece depender de vários fatores, como posicionamento do catéter de retroperfusão, anatomia venosa coronária, fluxo de retroperfusão e pressão no sistema venoso, bem como gradientes pressóricos entre o leito venoso coronário e o leito arterial distal, conforme demonstrado experimentalmente por Meesman e colaboradores (242).

**Aplicabilidade da retroperfusão.** A aplicabilidade da técnica está relacionada a três fatores básicos: 1) facilidade e rapidez da cateterização do seio coronário e posicionamento do catéter de retroperfusão; 2) treinamento especializado na técnica ; 3) indicação apropriada para seu uso.

No presente estudo, o catéter de retroperfusão foi adequadamente posicionado em 84% dos casos, e a técnica foi aplicada em 79% dos pacientes. A colocação do catéter levou, em média, 2,5 minutos (variação de 0,5 a 10 minutos) após introdução do mesmo no átrio direito. Para ativação do sistema, não é necessário a presença de um perfusionista, e retroperfusão tem sido utilizada até em hospitais sem laboratório de cateterismo cardíaco, apenas com fluoroscopia. Em relação aos pacientes estudados, a idade variou entre 18 e 85 anos, e idade avançada não constituiu uma contra-indicação a retroperfusão. A técnica foi utilizada em pacientes portadores de lesões obstrutivas graves na artéria descendente anterior neste estudo; em outros centros, a retroperfusão já foi utilizada em pacientes com lesões das artérias circunflexa ou coronária direita (267,268).

**Eficácia da retroperfusão.** Estudos experimentais em animais submetidos a oclusão arterial coronária aguda têm demonstrado uma redução significativa no tamanho do infarto (238-240), melhora na função ventricular (39,64), e também no metabolismo (129) após retroperfusão. Estudos clínicos preliminares têm sugerido eficácia no tratamento de pacientes com angina instável refratária e infarto agudo do miocárdio (267), e como tratamento de suporte durante angioplastia coronária (268).

Neste trabalho estudamos os efeitos da retroperfusão sobre a isquemia miocárdica induzida por obstrução temporária do fluxo coronário durante angioplastia da artéria descendente anterior, em pacientes com previsão de desenvolvimento de complicações, devido a extensão da área isquêmica. Cada paciente foi o seu próprio controle, e nenhum deles tinha infarto prévio ou alterações eletrocardiográficas (como bloqueio do ramo esquerdo) que pudessem interferir na análise dos resultados. A eficácia da retroperfusão ficou demonstrada pela redução e retardo no aparecimento da isquemia miocárdica, evidenciados pelas alterações eletrocardiográficas e redução da angina. Estes resultados permitem sugerir que a retroperfusão possa ser usada como um método de suporte durante angioplastia de alto risco, como descrito anteriormente por Vogel e colegas (261), ou em casos onde insuflações prolongadas do balão de angioplastia e interrupção do fluxo coronário sejam necessários. A retroperfusão, porém, não foi igualmente efetiva em todos os pacientes, e nem aboliu completamente a isquemia numa boa parte deles. Portanto há espaço para melhorias e otimização da técnica de retroperfusão.

**Retroperfusão prolongada em casos de angioplastia complicada.** Os índices de complicação da angioplastia neste estudo foram de 13%. Este alto percentual provavelmente deve-se ao fato de que os pacientes foram já selecionados para o estudo por apresentarem alta probabilidade de complicações. Oclusão coronária abrupta pós-angioplastia ocorreu em dois pacientes, resultando em choque cardiogênico num deles e angina refratária no outro. Em ambos os casos, a terapia convencional não resultou em

melhora, o que ocorreu prontamente com a instituição da retroperfusão. Dissecção do tronco da artéria coronária esquerda ocorreu num paciente. Esta é uma complicação rara, descrita previamente por Lotan e colaboradores (269). Este paciente também tinha um trombo na artéria descendente anterior e, portanto, com alto risco de oclusão coronária abrupta pós-angioplastia (270). Neste caso, o uso profilático da retroperfusão pode ser valioso.

Pacientes submetidos a cirurgia coronária de emergência tem uma mortalidade de 5 a 12 %, e desenvolvimento de ondas Q em 55 a 75 % dos casos (252). O risco aumenta muito quando a angioplastia é complicada por oclusão abrupta e deterioração hemodinâmica (252,270). Os três pacientes deste estudo que se enquadram nesta categoria não desenvolveram ondas Q após cirurgia, e não houve mortalidade, o que permite sugerir que o suporte temporário com retroperfusão pode ser benéfico nestes casos, servindo como ponte entre o período de instabilidade e a revascularização definitiva.

**Limitações do estudo.** Neste estudo, apenas uma derivação eletrocardiográfica foi utilizada para monitorização das alterações de ST e ondas T durante o procedimento. Talvez o uso de 12 derivações simultâneas pudesse acrescentar detalhes e informações mais preciosas sobre as alterações isquêmicas. Também o uso de ecocardiografia simultânea durante o procedimento só foi possível em 50 % dos pacientes, além do fato da posição do paciente (supino) não ser a mais adequada para obtenção de imagens com ecocardiografia trans-torácica. Uma outra limitação é que foram estudados apenas casos de obstrução da artéria descendente anterior; o papel da retroperfusão durante angioplastia de outras artérias coronárias deverá ser melhor estudado. Além disto, a retroperfusão é uma técnica invasiva, exigindo uma punção arterial e uma venosa. Portanto, doença vascular oclusiva pode ser uma limitação para o uso da técnica. Além disto, é necessário treinamento específico para cateterização do seio coronário e das veias coronárias.

## CONCLUSÃO

Esta nova técnica de retroperfusão sincronizada do miocárdio parece ser segura e aplicável durante angioplastia, preservando melhor a função ventricular esquerda. Também ocorreu reversão de isquemia severa e de choque cardiogênico num dos pacientes estudados. Além disto, em alguns casos foi necessário o uso prolongado da retroperfusão para estabilização dos pacientes. Portanto parece que esta técnica é eficaz e o seu uso pode ser considerado em pacientes a serem submetidos à angioplastia coronária de alto risco.

#### 6.4 RETROPERFUSÃO MIOCÁRDICA DURANTE ANGIOPLASTIA EM PACIENTES COM ANGINA INSTÁVEL: EXPERIÊNCIA INICIAL (PROTOCOLO 11).

Nos últimos anos, a angioplastia coronária tem sido utilizada com frequência no tratamento de pacientes com angina instável. Inicialmente proposta como uma técnica para tratamento de pacientes com doença arterial coronária de um vaso (271), as indicações da angioplastia foram rapidamente se expandindo, e hoje incluem pacientes com doença coronária multiarterial (272,273) e síndromes isquêmicas agudas (274-275), inclusive infarto agudo do miocárdio (210,211).

Dentre os vários tipos de lesões obstrutivas para as quais a angioplastia pode ser indicada, há lesões onde o risco do procedimento aumenta muito, como em casos de placas muito irregulares com trombo superimposto, lesões muito longas, excêntricas, ou em angulações extremas. Pacientes com função ventricular esquerda muito comprometida, ou com área miocárdica de risco muito extensa, também são considerados casos de alto risco (276,277).

Tem sido documentado, tanto a nível experimental (278) quanto clínico (250,251), que a disfunção contrátil miocárdica instala-se dentro de poucos segundos após oclusão arterial coronária, geralmente dentro de 10 a 20 batimentos, na ausência de fluxo coronário colateral significativo. Devido ao fato de que muitos pacientes toleram mal a oclusão temporária da artéria coronária durante a angioplastia, vários métodos de suporte ao miocárdio isquêmico têm sido propostos para serem usados durante o procedimento (259). Esta técnica tem sido descrita como angioplastia de suporte, ou angioplastia assistida (261). A angioplastia assistida pode ser feita com técnicas que primariamente oferecem aumento do suprimento sangüíneo ao miocárdio isquêmico, ou com técnicas que primariamente dão suporte hemodinâmico (259-261).

A retroperfusão sincronizada do miocárdio é, basicamente, uma técnica de suporte miocárdico, porque aumenta o fluxo sanguíneo para as regiões miocárdicas isquêmicas (129,241); secundariamente, isto pode resultar numa melhora nos parâmetros hemodinâmicos (39-40). A retroperfusão tem sido estudada exaustivamente a nível experimental, sendo que o seu principal efeito tem sido na redução do tamanho do infarto (39,64,238,239). A técnica tem sido testada preliminarmente em seres humanos, onde não se evidenciou complicações significativas com o seu uso (40,265,279,280), mesmo em casos onde a retroperfusão foi utilizada por muitas horas seguidas (40,279).

No presente estudo, vamos apresentar os resultados de uma experiência inicial com o uso da retroperfusão para suporte de angioplastia em pacientes com angina instável, considerados de alto risco para complicações da angioplastia.

#### MÉTODOS.

Vinte pacientes foram estudados, incluindo casos de angina em repouso refratária ao tratamento médico convencional máximo, e também pacientes com angina em crescendo. Angina em repouso foi definida como angina com duração de 5 minutos ou mais acompanhada de desvio do segmento ST de 1 mm ou mais, em pelo menos 2 derivações consecutivas, além de valores de creatinoquinase basal (fração MB) menor do que 2 vezes o seu valor normal. Pacientes com contra-indicação ao uso de anticoagulante, com doença terminal, hipertensão arterial severa (pressão sistólica acima de 180 mmHg, ou diastólica acima de 115 mmHg, ou ambos), insuficiência cardíaca, doença valvar severa, miocardiopatia ou hipotensão severa (pressão sistólica menor que 85 mmHg) foram excluídos, além de pacientes com acinesia ou discinesia nas regiões supridas pela artéria coronária a ser dilatada.

Protocolo clínico. Todos os pacientes foram inicialmente avaliados na unidade coronária para a presença de angina (classificação da Sociedade Canadense de Doenças Cardiovasculares), verificação de cardiopatias

associadas, estado clínico geral e uso de medicamentos. Os pacientes foram então transferidos para a sala de cateterismo cardíaco, e arteriografia diagnóstica foi feita através da artéria femoral. Uma dose de 5 a 10 mg de dinitrato de isosorbitol sublingual foi administrada após a primeira injeção de contraste na artéria coronária, a qual foi então repetida a fim de afastar a possibilidade de espasmo coronário. A lesão arterial responsável pelo quadro clínico do paciente foi então identificada, e outras lesões na árvore coronária foram também avaliadas. Após coronariografia, os pacientes foram levados de volta para a Unidade Coronária, onde receberam heparina endovenosa e aspirina; outras medicações ficaram exclusivamente a critério do médico do paciente, mas nenhum deles recebeu trombolítico. Ainda antes do cateterismo diagnóstico, os seguintes exames laboratoriais foram realizados: hemograma completo, perfil da coagulação sanguínea, creatinina sérica, glicemia, eletrólitos e um RX de tórax.

A angioplastia com suporte da retroperfusão foi então agendada para o dia seguinte ao cateterismo diagnóstico. Os próprios pacientes e/ou familiares próximos assinaram um termo de consentimento para o procedimento a ser realizado, termo este previamente aprovado pela comissão de ética da Instituição. Foram selecionados pacientes de alto risco para angioplastia, ou seja, aqueles com fração de ejeção global do ventrículo esquerdo menor que 0,45 e/ou áreas de risco (para isquemia) maior que 40 % do miocárdio. A premedicação foi feita com meperidina (50 mg) e difenidramina (50 mg) por via intramuscular. A angiografia foi então realizada usando o método de Sones, através da artéria braquial direita. O eletrocardiograma foi monitorado durante todo o procedimento.

Retroperfusão. A operação detalhada do sistema de retroperfusão já foi descrita anteriormente. Em resumo, o sistema de retroperfusão consiste num console eletrônico, sendo que a bomba de retroperfusão (descartável) esta alinhada a este console. O sangue arterial é então retirado da artéria femoral esquerda através de um catéter número 8F, com orifícios laterais e um terminal. Este catéter é então conectado a via de entrada da bomba, e na via

de saída da mesma é conectado o catéter de retroperfusão. Este último é um catéter número 8,5 F, de triplo lúmen, e com balonete na sua ponta (a 10 mm da ponta do catéter). Com pressão máxima, o balonete adquire a forma oval, com 10 mm de diâmetro. Durante a retroperfusão, o balonete é insuflado em diástole (segundo lúmen) com um volume fixo de dióxido de carbono, em sincronização com cada ejeção provocada pela bomba. O sangue arterial é então bombeado em diástole por um pistão ativado pela onda R do eletrocardiograma. Na sístole, o balonete é desinsuflado e permite a drenagem venosa coronária. O terceiro lúmen do catéter é utilizado para monitorização da pressão venosa coronária.

Procedimentos de cateterização. O catéter de retroperfusão foi inserido através da veia braquial ou veia jugular interna direitas. Para retroperfusão do miocárdio suprido pela artéria descendente anterior, o catéter de retroperfusão foi posicionado mais distalmente na veia cardíaca maior, usando um guia metálico número 0,018 (0,46 mm de diâmetro) e evitando encravamento do catéter [posição 3 descrita por Berland et al (280)]. Para os casos de retroperfusão do miocárdio suprido pelas artérias circunflexa ou coronária direita, o catéter foi posicionado o mais próximo possível do seio coronário, a fim de retroperfundir as veias tributárias que desembocam próximo ao seio coronário. Venografia coronária com renografina 76 (diatrizoato de meglumina) foi feita em todos os pacientes, a fim de afastar "shunts" venosos e também para verificar compartimentalização apropriada das veias coronárias e drenagem do contraste durante a sístole. Após isto, 10.000 UI de heparina foi administrada por via venosa. Um catéter de Swan-Ganz número 7F foi então inserido pela veia braquial ou pela jugular interna direita, para medidas de pressão arterial pulmonar e débito cardíaco. A pressão arterial sistêmica foi monitorada pelo introdutor da artéria femoral. Os seguintes índices foram calculados: Índice de trabalho de ejeção ventricular esquerda (em g.m/m<sup>2</sup>) = índice de volume sistólico x (pressão arterial média - pressão média do capilar pulmonar) x 0,0136.

Os ventriculogramas esquerdos foram obtidos com o uso de 0,5 ml/kg de renografina 76 injetados por bomba, utilizando um catéter tipo "pig-tail" número 8F. Os volumes diastólico e sistólico final do ventrículo foram calculados pelo método descrito por Sandler e Dodge (281), e a fração de ejeção global calculada. A função regional foi avaliada usando um eixo fixo, dividindo o ventrículo esquerdo em 4 regiões: anterior, inferior, apical e basal (282). O encurtamento dos eixos nas regiões isquêmicas foi obtido antes, durante a angioplastia (no pico das insuflações do balonete do catéter de angioplastia) com ou sem suporte de retroperfusão, e também após o procedimento.

Para comparar a angioplastia com ou sem suporte de retroperfusão, a primeira insuflação do balonete da angioplastia ocorreu sem suporte de retroperfusão, e na segunda insuflação foi usada a retroperfusão, a qual sempre foi ativada simultaneamente à insuflação do balão do catéter de angioplastia. Sempre se aguardou a normalização do eletrocardiograma e débito cardíaco para se proceder à segunda insuflação da angioplastia. Nenhum medicamento foi administrado durante a angioplastia, a exceção de heparina para manter um tempo de coagulação ativado de 400 segundos, no mínimo.

Angioplastia com sucesso foi definida quando o diâmetro residual da lesão ficou menor que 50% pela análise visual dos angiogramas, avaliação esta feita por um observador alheio aos resultados dos procedimentos. Na ausência de complicações como infarto do miocárdio ou cirurgia de emergência, o procedimento foi considerado como sucesso terapêutico. Após o término da angioplastia, os pacientes foram transferidos para a unidade coronária, e heparina foi continuada numa dose de 1000 U/hora, a fim de manter o tempo de tromboplastina parcial ativado acima de 2 vezes o seu valor basal.

Análise estatística. Foram feitas análises estatísticas das seguintes variáveis: frequência cardíaca, pressão arterial sistólica e diastólica, índice cardíaco, índice de trabalho de ejeção, fração de ejeção global do ventrículo esquerdo, e função contrátil regional nas áreas isquêmicas e não-isquêmicas.

Estas variáveis foram primeiramente avaliadas com análise de variância de uma via, a fim de verificar diferenças estatísticas entre os tempos das medidas, ou seja, antes, durante (com e sem retroperfusão) e após a angioplastia. Em caso de haver ocorrido diferenças estatísticas ( $p < 0,05$ ) entre os 4 tempos acima mencionados, um teste pareado tipo "teste t" foi feito para diferenciar insuflações com ou sem o uso da retroperfusão. Os resultados estão apresentados em valores médios e um desvio padrão.

## RESULTADOS.

**Pacientes excluídos do estudo:** A retroperfusão foi implementada com sucesso em 15 dos 20 pacientes estudados (Tabela 29). Dos 5 pacientes nos quais a retroperfusão não foi possível, um tinha uma fístula grande entre a veia interventricular anterior e o átrio direito, e um segundo paciente tinha um seio coronário e veia cardíaca maior muito amplos, impedindo a obstrução da veia durante a retroperfusão diastólica, o que foi confirmado por venografia com insuflação manual do balonete do catéter de retroperfusão. Em 2 outros pacientes previamente submetidos a cirurgia de revascularização miocárdica, o seio coronário estava deformado e não foi possível posicionar devidamente o catéter de retroperfusão. O quinto paciente foi excluído porque houve uma falha mecânica da bomba de retroperfusão durante o procedimento.

Tabela 29. Achados clínicos e angiográficos em 15 pacientes.

Paciente	Idade/sexo	Situação clínica	IAM Prévio	Estenose Coronária >50%	Artéria dilatada	Fluxo colateral
1	45/M	Angina, classe IV	não	ADAp e diag.1 subtotal; AC 50%	ADA	não
2	49/M	Angina, classe IV	não	ADAp 90%, ACD 50%, AC 50%	ADA	não
3	58/M	Angina repouso, IAM	não	ADAp subtotal, AC 50%	ADA	não
4	41/F	Angina, classe IV	não	ADAp 90%	ADA/diag1*	não
5	57/M	Angina repouso	não	ADAp 90% ADP 50%	ADA	não
6	70/M	Angina, classe IV	sim	ACD 90%, ADAp 100% marg 1 da AC 70%	ACD	ACD→ADA
7	76/F	Angina repouso	não	ACD 90%; ADAp 100%	ACD	ACD→ADA
8	61/M	Angina, classe IV	sim	ADAp 90%; diag1 90%	ADA/diag1*	não
9	63/M	Angina, classe III	sim	ADAp subtotal	ADA/diag1*	não
10	37/M	Angina repouso	sim	ADA 90%, ACD 100% diag1 90%	ADA/diag1*	não
11	70/M	Angina repouso	sim	ADAp 90%, diag1 90% ACD 100%	ADA/diag1*	não
12	62/M	Angina, classe III	sim	ACD 90%, AC 90%	AC	não
13	66/M	Angina, classe IV	não	TCE 90%, ponte ADA 100% ponte marg1 100%, AC 70%	TCE	não
14	46/M	Angina repouso	sim	TCE 90%, ponte ADA 100%, ponte AC 100%	TCE	não
15	59/M	Angina, classe III	não	TCE 90%, ponte ACD 90%, ACD 90%, AMIE 90%	AMIE/ADA	não

\* Indica oclusão de ambas artérias durante insuflação do balonete de angioplastia; Pac = paciente; M = masculino; F = feminino; IAM = infarto agudo do miocárdio; Classe angina = classificação da Associação Canadense Cardiovascular; ADAP = artéria coronária descendente anterior proximal; Diag1 = 1º ramo diagonal da ADA; ACD = artéria coronária direita; AC = artéria circunflexa esquerda; Marg1 = 1º ramo marginal da AC; TCE = tronco da artéria coronária esquerda; AMIE = artéria mamária interna esquerda; ponte = ponte de veia safena.

**Colocação do catéter de retroperfusão.** Dentre os 15 pacientes submetidos ao protocolo completo do estudo, o catéter de retroperfusão foi colocado no seio coronário num tempo médio de 3,5 minutos, variando de 1 a 15 minutos. Em 13 deles o catéter foi colocado através da veia braquial e em 2 pacientes pela veia jugular interna.

**Características clínicas e angiográficas dos pacientes.** Dos 15 pacientes estudados, em 3 havia lesão severa do tronco da artéria coronária esquerda; estes pacientes haviam sido operados anteriormente. Cinco outros pacientes tinham doença coronária triarterial, e quatro tinham lesão grave e única da artéria descendente anterior. Sete pacientes tinham infarto prévio com ondas Q no eletrocardiograma, e sete dos quinze tinham fração de ejeção global do ventrículo esquerdo abaixo de 0,40. Um dos pacientes com angina

de repouso e isquemia anterior desenvolveu supradesnível de ST no eletrocardiograma e foi levado imediatamente da Unidade Coronária para a sala de cateterismo. Encontrou-se suboclusão da artéria descendente anterior e houve uma pequena liberação enzimática neste paciente (5 vezes o valor basal da isoenzima MB da creatinoquinase). Imagem angiográfica compatível com trombo na artéria responsável pela isquemia foi encontrada em 5 pacientes durante a angioplastia. Utilizando os critérios de fração de ejeção basal abaixo de 0,40 e/ou um vaso suprindo mais de 40 % do músculo viável (com contração miocárdica preservada), todos os 15 pacientes foram considerados de alto risco para angioplastia.

**Retroperfusão.** A retroperfusão foi utilizada com fluxo retrógrado variando entre 125 e 250 ml/min. A duração das insuflações não-tratadas com retroperfusão variou de 25 a 75 segundos (média 44 +/- 3s), enquanto que as insuflações tratadas com retroperfusão duraram entre 90 e 240 segundos. A pressão de pico na veia coronária foi 13 +/- 4 mmHg antes, e de 15 +/- 3 mmHg (em sístole) durante as insuflações não tratadas com retroperfusão; já durante as insuflações tratadas com retroperfusão, a pressão de pico na veia cardíaca maior foi de 42 +/- 8 mmHg (em diástole), variando de 22 a 60 mmHg ( $p < 0,001$  comparada as insuflações não-tratadas).

A frequência cardíaca e a pressão arterial medidas antes, durante, e após o procedimento, não mostraram alterações muito importantes; estes dados estão resumidos na Tabela 30. Entretanto, com o uso de análise de variação entre os quatro períodos (antes, durante angioplastia e após o procedimento), notaram-se diferenças estatisticamente significativas nas medidas de pressão arterial sistólica, índice cardíaco, índice de trabalho de ejeção, fração de ejeção, e contração regional nas regiões isquêmicas, conforme demonstrado nas Figuras 46 a 49. Oclusão arterial coronária durante a angioplastia resultou numa queda significativa de pressão arterial sistólica, de 116 +/- 16 para 104 +/- 22 mmHg (pressão basal versus pressão durante oclusão coronária sem suporte de retroperfusão,  $p < 0,05$ ), tendendo a aumentar durante as insuflações com suporte de retroperfusão, e retornando

ao normal após o procedimento (Tabela 30). O débito cardíaco e o trabalho de ejeção caíram significativamente durante as insuflações sem suporte, mas caíram menos durante angioplastia com retroperfusão (Figuras 46 e 47).

**Tabela 30.** Achados hemodinâmicos

	Antes Angioplastia	Durante Angioplastia		Após Angioplastia	valor p*
		Sem SRP	Com SRP		
FC (bat/min)	68±20	72±20	72±20	69±15	0,30
PAS (mmHg)	116±18	104±22	108±21	122±15	0,0008
PAD (mmHg)	74±10	70±13	73±12	75±9	0,23

\* Análise de variação, diferença estatística entre os 4 períodos estudados

FC = frequência cardíaca

PAS = pressão arterial sistólica

PAD = pressão arterial diastólica

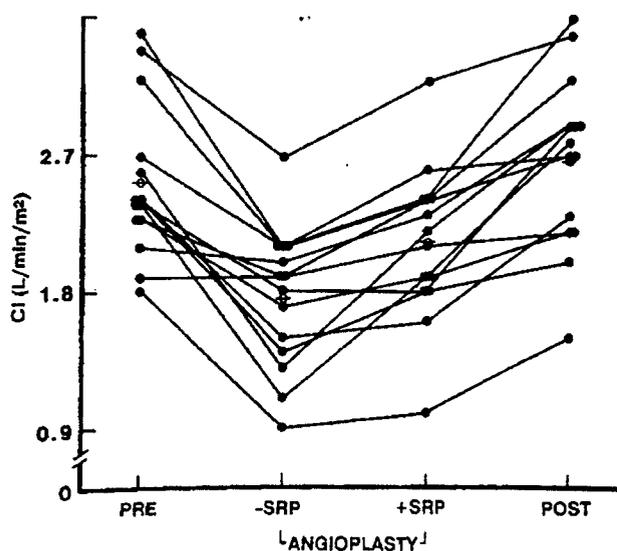


Figura 46. Índice cardíaco (CI, eixo vertical), antes (pre) e durante angioplastia sem (-SRP) e com (+SRP) retroperfusão, e após angioplastia (post). Nota-se um aumento do índice cardíaco durante angioplastia com suporte de retroperfusão.

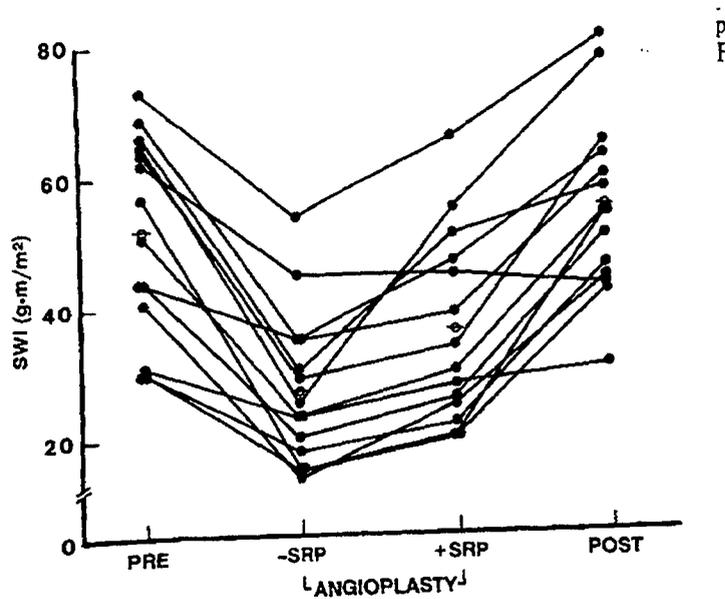


Figura 47. Índice de trabalho de ejeção (SWI) do ventrículo esquerdo durante angioplastia sem e com suporte de retroperfusão. Abreviações conforme a Figura 46.

Dados das ventriculografias. Pacientes com lesão grave de tronco de coronária esquerda e/ou pressão de capilar pulmonar acima de 22mmHg, tiveram apenas uma ventriculografia e, portanto, dados completos dos 4 estágios do protocolo foram obtidos em apenas 8 dos 15 pacientes. Estas informações estão resumidas nas Figuras 48 e 49. A fração de ejeção global do ventrículo esquerdo caiu de  $55 \pm 13\%$  para  $27 \pm 7,3\%$  durante as insuflações não-tratadas com retroperfusão, mas caiu para apenas  $39 \pm 10\%$  durante angioplastia com suporte de retroperfusão ( $p=0,0016$ ); após o procedimento, a fração de ejeção foi de  $58 \pm 7,6\%$ . A contração regional nas áreas não-isquêmicas (Figura 49) diminuiu muito menos durante a angioplastia com suporte (de  $49 \pm 17\%$  para  $27 \pm 15\%$ ), do que durante angioplastia sem suporte ( $11 \pm 15\%$ ), atingindo uma diferença estatística significativa ( $p<0,01$ ). Não foram observadas diferenças importantes nas áreas não-isquêmicas. A Figura 50 mostra a coronariografia do paciente número 4 (Tabela 29), enquanto que os ventriculogramas estão colocados na Figura 51, no mesmo paciente.

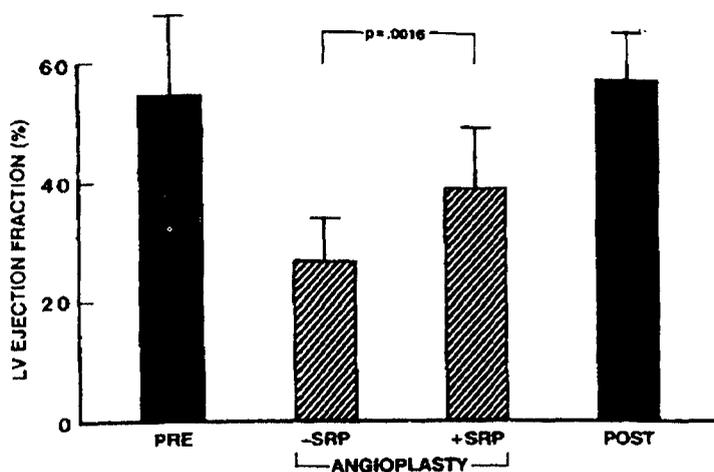


Figura 48. Fração de ejeção global do ventrículo esquerdo (LV ejection fraction, eixo vertical) em oito pacientes, antes (PRE), durante angioplastia (angioplasty) sem (-SRP) e com (+SRP) suporte de retroperusão (SRP), e após angioplastia (POST).

$p < 0,001$  para diferenças entre os quatro períodos;  $p < 0,05$  PRE ou POST vs. -SRP ou +SRP.

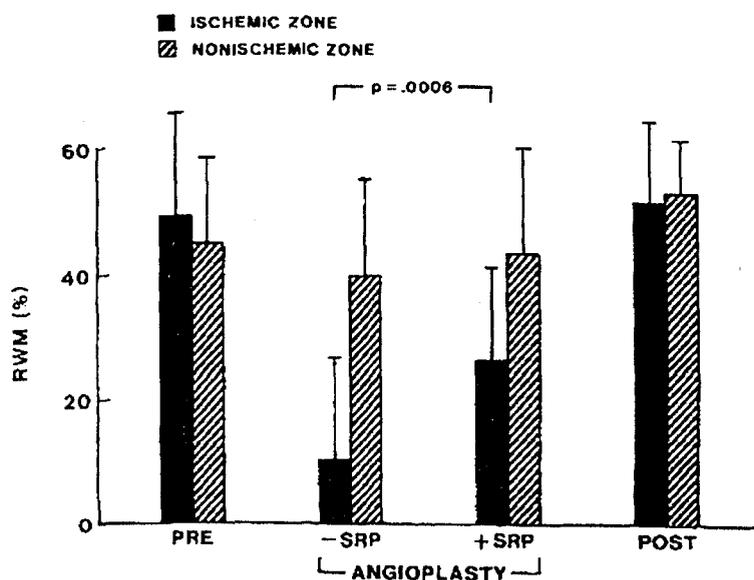


Figura 49. Motilidade regional da parede (RWM) ventricular esquerda em 8 pacientes, nas regiões isquêmicas (ischemic zone) e não isquêmicas (nonischemic zone), antes (PRE), durante angioplastia sem (-SRP) e com (+SRP) retroperusão sincronizada (SRP);  $p < 0,001$  entre os quatro períodos na região isquêmica;  $p =$  não-significativo na região não-isquêmica;  $p < 0,01$  PRE ou POST vs. -SRP ou +SRP.

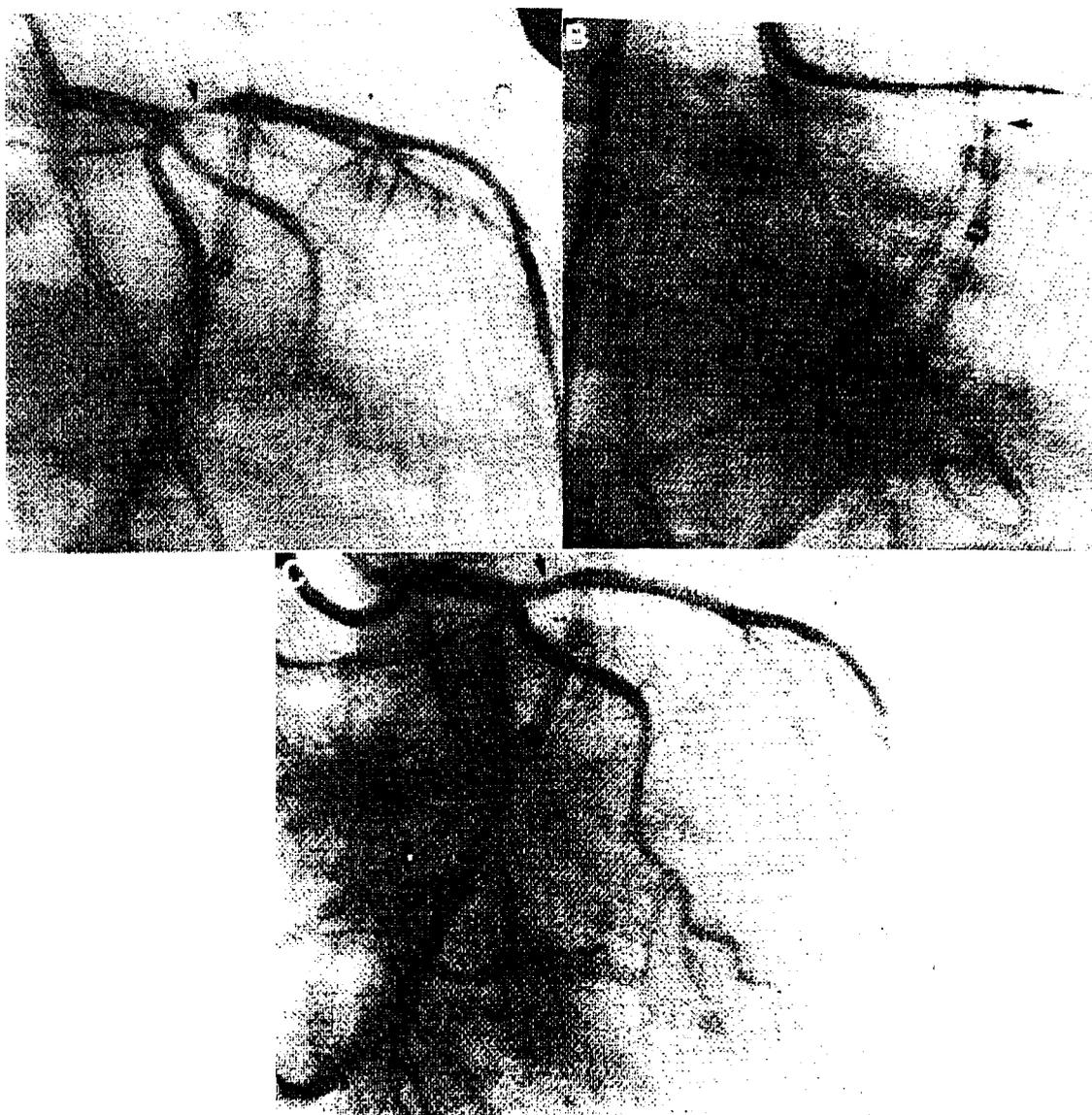


Figura 50. Arteriogramas (em oblíqua anterior direita) da artéria coronária esquerda no paciente nº 4 (veja Tabela 29). A) antes da angioplastia, com indicação (seta) da estenose severa e localizada da artéria descendente anterior (ADA) proximal. B) balonete do catéter de retroperfusão (seta) posicionado na veia cardíaca maior distal; observa-se o catéter de angioplastia na ADA. C) após angioplastia da ADA, com resolução de estenose na artéria (seta).

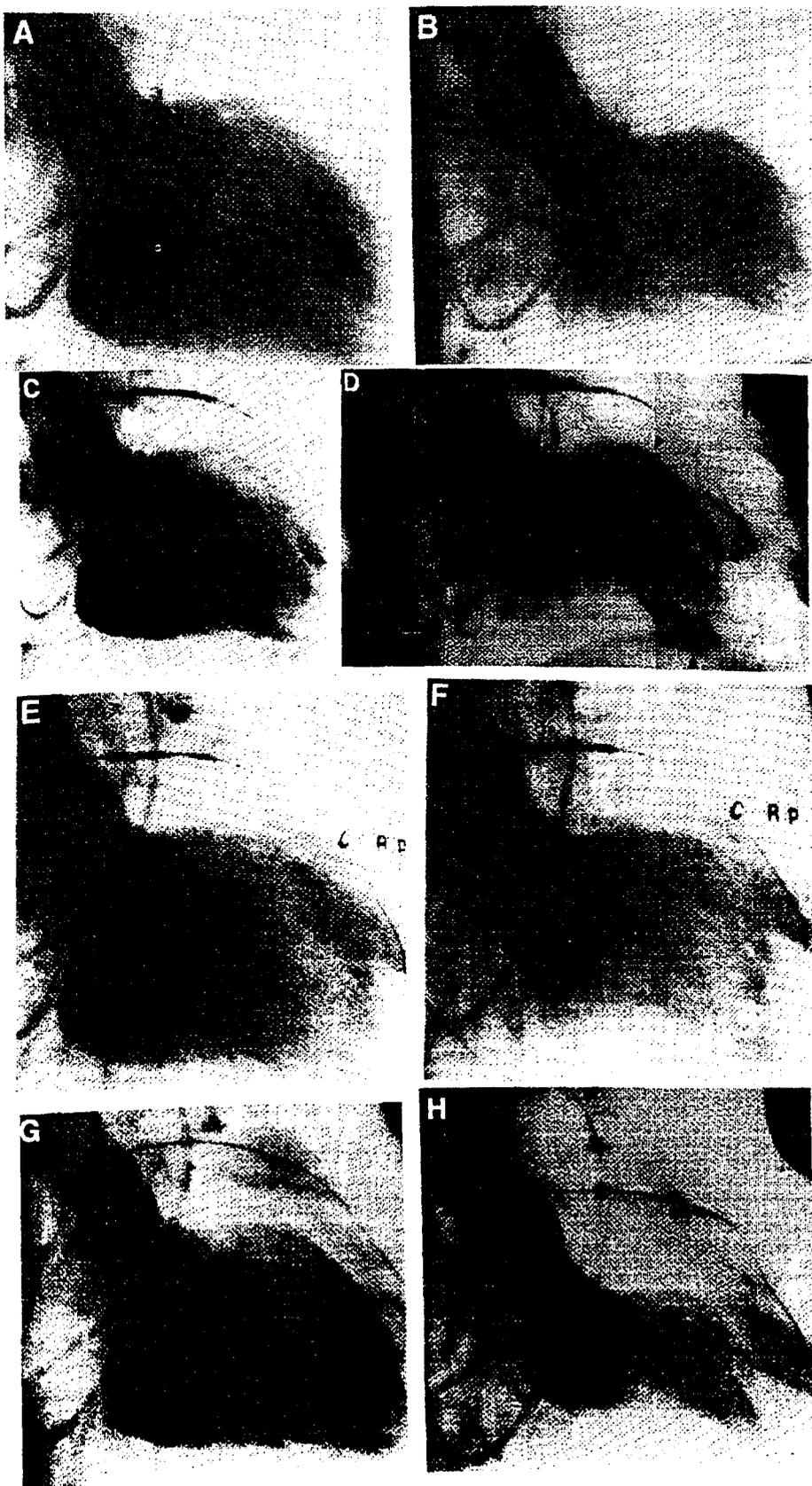


Figura 51. Ventriculografias contrastadas no paciente 4 (da Figura 50) em diástole final (painéis da esquerda) e em sístole final (painéis da direita) do ventrículo esquerdo (VE). A, B) antes da angioplastia, mostrando hipocinesia das paredes anterior e apical, com fração de ejeção global do VE de 37%.

C, D) durante angioplastia sem suporte de retroperfusão (SRP) observa-se discinesia das paredes anterior e apical (setas, em D) e hipercontratilidade da parede inferior, com fração de ejeção de 26%. E, F) durante angioplastia com suporte de retroperfusão, observa-se melhora da contração regional nos locais indicados pelas setas e a fração de ejeção aumentou para 32%. G, H) imediatamente após o término da angioplastia, onde se observa apenas hipocinesia leve na parede ântero-apical do VE, com uma fração de ejeção global de 55%.

**Complicações.** Não houve complicações sérias durante os procedimentos. Dois pacientes (pacientes números 7 e 13, Tabela 29) tiveram um hematoma na virilha, necessitando 1 e 2 unidades de sangue, respectivamente. Arritmias transitórias ocorreram em 4 pacientes durante a cateterização do seio coronário, mas desapareceram espontaneamente após alguns minutos. Não houve morte relacionada aos procedimentos, ou mesmo durante o período de hospitalização destes 15 pacientes.

**Angioplastia.** Angioplastia foi feita em 1,4 vasos por paciente, e foi considerada com sucesso em 95% dos vasos, incluindo dilatação do tronco da coronária esquerda em 3 pacientes. A estenose coronária diminuiu de uma média de 91% para 30%. Nenhum dos pacientes desenvolveu infarto do miocárdio durante os procedimentos, ou mesmo oclusão coronária abrupta após angioplastia, e nenhum necessitou cirurgia de revascularização de emergência.

## DISCUSSÃO:

**O candidato de alto risco para angioplastia.** Um número crescente de pacientes com doença arterial coronária obstrutiva tem sido submetido a angioplastia; destes, um percentual considerável apresenta anatomia coronária desfavorável e/ou função ventricular comprometida, de tal forma que a angioplastia torna-se um procedimento de alto risco (276, 283). Incluídos neste grupo estão os pacientes com fração de ejeção do ventrículo esquerdo baixa (abaixo de 35 - 40 %), e também pacientes nos quais a artéria a ser submetida a angioplastia supre uma grande parte do miocárdio com função contrátil preservada; nestes pacientes, os riscos de colapso hemodinâmico, edema agudo de pulmão, ou fibrilação ventricular são muito maiores (283). Pacientes com angina instável também apresentam um risco maior de oclusão coronária abrupta durante ou após a angioplastia (247, 274, 275). Durante

angioplastia eletiva, 4 a 7 % dos pacientes apresentam obstrução coronária abrupta (277, 283), e uma percentagem razoável destes pacientes é submetida a cirurgia coronária de emergência; neste último caso, a incidência de infarto perioperatório chega a 50%, com uma mortalidade muito maior comparada a cirurgia coronária eletiva (283). Portanto, é de importância fundamental desenvolver métodos racionais de proteção miocárdica e suporte hemodinâmico para estes casos de angioplastia de alto risco.

**Angioplastia assistida.** O termo angioplastia assistida ou de suporte foi recentemente utilizado para caracterizar o uso profilático de aparelhos de assistência circulatória durante angioplastia de alto risco (261). Naturalmente, algumas destas técnicas podem ser usadas como "standby", para serem implementadas em caso de necessidade, como em algumas complicações relacionadas ao procedimento. Várias técnicas têm sido propostas para suporte de angioplastia de alto risco. Dentre estas técnicas estão aquelas que proporcionam assistência circulatória sistêmica ou hemodinâmica, e aquelas que primariamente aumentam o fluxo sangüíneo miocárdico, podendo ou não em decorrência disto haver melhora no estado hemodinâmico geral do paciente. Dentre as técnicas que proporcionam suporte hemodinâmico estão o balão intra-aórtico (260), a "hemopump" (262), "bypass" cardiopulmonar percutâneo (261), e "bypass" aorta-átrio esquerdo (284). Estas técnicas não proporcionam perfusão miocárdica direta. Dentre as técnicas que aumentam a perfusão miocárdica podemos separar três grupos distintos: 1) técnicas que aumentam a perfusão miocárdica diretamente, como é o caso da retroperfusão (129), perfusão anterógrada coronária ativa em diástole (285), ou hemoperfusão anterógrada ativa contínua (286); 2) técnicas que proporcionam perfusão miocárdica passiva, como o catéter de autoperfusão de Stack (287); 3) técnicas que melhoram a perfusão miocárdica com substitutos do sangue, como os perfluorocarbonos (255,256).

A experiência clínica com estas técnicas durante angioplastia de alto risco é relativamente limitada, e não há estudos controlados comparando a sua eficácia em relação a outras técnicas. Evidentemente, existem vantagens

inerentes a cada uma delas para casos clínicos específicos em pacientes de alto risco a serem submetidos a angioplastia.

**Retroperfusão para suporte de angioplastia.** Estudos preliminares (279) utilizando retroperfusão para suporte de angioplastia da artéria descendente anterior em pacientes com angina estável demonstraram a aplicabilidade e segurança da técnica, com mínimas complicações em poucos pacientes. Berland e colegas recentemente reportaram uma redução significativa na dor precordial e nos desvios do segmento ST durante angioplastia assistida por retroperfusão, além de uma melhora na fração de ejeção do ventrículo esquerdo (280). Entretanto, a eficácia da retroperfusão para suporte de angioplastia em pacientes de alto risco não tem sido claramente demonstrada até o presente.

No estudo atual, nós procuramos investigar os efeitos da retroperfusão em parâmetros hemodinâmicos, na fração de ejeção global, e também na contração regional do ventrículo esquerdo, utilizando ventriculografia contrastada num subgrupo de pacientes considerados como de alto risco para o procedimento. Melhora nos parâmetros hemodinâmicos foi observada em 13 dos 15 pacientes estudados. Entretanto, baseado nos achados do presente estudo, não podemos assegurar de que a retroperfusão, isoladamente, será suficiente para evitar colapso hemodinâmico em pacientes de alto risco, ou ainda para recuperar pacientes que desenvolvam hipotensão severa ou choque durante a angioplastia. Nesta pequena série de pacientes, apenas em 2 casos houve hipotensão severa durante angioplastia e insuflações sem suporte, e nestes mesmos pacientes não se observou hipotensão importante durante as insuflações do balonete de angioplastia com suporte de retroperfusão.

A eficácia de retroperfusão parece estar na dependência de alguns pontos críticos, de acordo com nossas observações clínicas e também através de conhecimentos prévios a nível experimental. Em primeiro lugar, a insuflação do balonete do catéter de retroperfusão deve obstruir totalmente a veia coronária, a fim de criar um compartimento mais fechado no sistema de

drenagem venosa coronária; isto permitiria um fluxo de retroperfusão unidirecional, além de aumentar mais significativamente a pressão no sistema venoso coronário, o que é também considerado um ponto crítico para a sua eficácia (288). Se parte do fluxo sanguíneo arterial retroperfundido regurgita para o átrio direito, a eficiência do sistema fica comprometida. Em segundo lugar, o posicionamento do catéter da retroperfusão parece ser também um ponto crucial; por exemplo, para a retroperfusão do território suprido pela artéria descendente anterior, a ponta do catéter de retroperfusão deve estar distalmente posicionada na veia cardíaca maior, próximo a veia interventricular anterior (280). O terceiro e talvez mais crítico dos fatores é o aumento da pressão venosa coronária durante a retroperfusão. Estudos experimentais prévios têm demonstrado que a eficiência da retroperfusão é dependente deste aumento pressórico (242). Este aumento da pressão diastólica das veias coronárias durante a retroperfusão, por sua vez, depende de pelo menos 3 fatores: a) criação de um compartimento no leito venoso coronário; b) o fluxo da bomba de retroperfusão ; e c) presença de "shunts" no sistema venoso coronário, inclusive do sistema de Thebesius.

Uma observação importante que ascendeu destes estudos clínicos foi que, em seres humanos, este aumento da pressão venosa coronária durante a retroperfusão é menor do que aquele observado em animais como o cão (39), o porco (289), e o rato (33). Conforme mencionado anteriormente, vários fatores poderiam ser responsáveis por este fato, particularmente um sistema de Thebesius mais rico no homem do que em outros mamíferos. No presente estudo, a pressão venosa coronária foi mais alta comparada a um estudo recentemente publicado (279), embora ainda estivesse longe da pressão de pico máxima (60 mmHg), em termos de tolerância e seguridade. Isto poderia ser explicado pelo fato de que, neste estudo, o catéter de retroperfusão foi posicionado mais distalmente na veia cardíaca maior. Além disto, o fluxo médio da bomba de retroperfusão no presente estudo foi mais alto do que em estudos anteriores. Devido ao fato de que a eficácia da retroperfusão parece mesmo estar relacionada aos gradientes veno-arteriais e venoso coronário com a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo, como previamente sugerido

em estudos experimentais (242), é bem provável que uma melhora na eficácia da retroperfusão possa ser conseguida através de melhorias na forma de operação do catéter e da bomba de retroperfusão, com isso obtendo-se pressões mais altas no sistema venoso coronário e melhor fluxo retrógrado para o miocárdio.

**Limitações do estudo.** Uma das limitações do presente estudo é que as insuflações durante angioplastia com suporte de retroperfusão não foram randomizadas. Devido ao fato de já se prever insuflações mais prolongadas quando tratadas com retroperfusão, nós decidimos não randomizar as insuflações, pelo simples motivo de que uma insuflação mais prolongada inicial poderia causar condicionamento isquêmico (290), ou até atordoação do miocárdio (291), situações já bem conhecidos após oclusão breve da artéria coronária seguida de reperfusão. De acordo com o nosso conhecimento atual, não há evidência de que oclusão com duração menor que 60 segundos (só num paciente a oclusão inicial sem suporte de retroperfusão durou mais que 1 minuto) possam causar recrutamento de fluxo colateral, miocárdio atordoado ou condicionamento isquêmico.

Outro problema possível do estudo estaria relacionado ao uso repetido de ventriculogramas contrastados, o que poderia afetar a função ventricular; para evitar este possível efeito, nós aguardamos pela normalização do eletrocardiograma e também do débito cardíaco, e prolongamos ao máximo o tempo entre uma e outra insuflação do balonete durante a angioplastia. Não foi possível, além disto, obter ventriculogramas seqüenciais em todos os pacientes.

Retroperfusão com fluxo de até 250 ml por minuto só esteve disponível nos últimos seis pacientes estudados. É possível que o uso de fluxos maiores pudesse alterar os resultados aqui apresentados. Outra limitação é que o período de bombeamento foi de no máximo 4 minutos neste estudo preliminar, e não se pode afastar a possibilidade de uma melhor resposta caso a retroperfusão pudesse ter sido prolongada por mais tempo; o oposto também deve ser considerado, ou seja, perda de eficácia com uso contínuo da

retroperfusão. Inquestionavelmente, é necessário que se estude estes aspectos com mais detalhes, particularmente utilizando retroperfusão com fluxo retrógrado e pressão venosa coronária próximos do ideal. Embora dois dos três pacientes que receberam retroperfusão durante angioplastia das artérias circunflexa e coronária direita tenham tido uma resposta positiva, a experiência com o uso da retroperfusão fora do território suprido pela artéria coronária descendente anterior ainda é muito limitada, e mais estudos são necessários em relação a este aspecto. Para estes casos, talvez seja necessário cateterização seletiva das veias coronárias posteriores e melhor estabilidade no posicionamento do catéter para a retroperfusão destes territórios.

## CONCLUSÃO.

Este estudo preliminar mostra que a angioplastia com suporte de retroperfusão tem aplicabilidade em pacientes com angina instável, parece ser um método seguro, e resulta numa melhora no estado hemodinâmico e funcional do ventrículo esquerdo. Acreditamos que estes efeitos sejam provenientes de uma melhora na perfusão sanguínea miocárdica. Outras técnicas de suporte miocárdico e também hemodinâmico estão sendo investigadas, está claro que elas não são mutuamente excludentes, mas também é preciso esclarecer com maior precisão que tipo de paciente necessita realmente de suporte circulatório durante angioplastia coronária.

## 7 DISCUSSÃO GERAL

A retroperfusão miocárdica foi inicialmente concebida para tratamento da isquemia miocárdica aguda, numa época em que reperfusão anterógrada não-cirúrgica era inviável; nesta época o tratamento desses pacientes consistia no uso de medicamentos para reduzir a demanda de oxigênio pelo miocárdio, e no tratamento das complicações do infarto agudo do miocárdio.

Os primeiros estudos experimentais com retroperfusão sincronizada do miocárdio foram iniciados em meados da década de 70. Naquela época, os primeiros testes em cães ainda foram feitos com cateteres improvisados, e também com uma bomba de retroperfusão pouco eficiente. Enquanto estes estudos preliminares de aplicabilidade e eficácia foram sendo completados em animais de experimentação, menor importância foi dada ao refinamento do catéter e da bomba propulsora de sangue arterial para a retroperfusão. Quando estes estudos foram completados, no início da década de 80, começaram então a aparecer novos tratamentos para pacientes com infarto agudo do miocárdio, especificamente o uso de drogas trombolíticas e angioplastia transluminal coronária. Apenas em meados da década de 80 é que os catéteres e a bomba de retroperfusão foram melhorados, a ponto de permitir os primeiros testes em seres humanos em 1987. A partir deste ponto, verificou-se que havia necessidade de mudança no sistema, já que não se conseguia elevar a pressão no sistema venoso coronário durante a retroperfusão em seres humanos da mesma forma que em cães, tornando a retroperfusão menos eficiente no homem. O provável motivo desta menor elevação da pressão venosa coronária é um sistema venoso de Thebesius mais rico no homem do que no cão. Novas adaptações e melhorias no sistema de retroperfusão só foram completadas na segunda metade da década de 80, época em que os estudos sobre o uso de trombolíticos e da angioplastia no infarto agudo do miocárdio já demonstravam grande eficácia em estudos em larga escala. Com o estabelecimento da reperfusão anterógrada como o

método de eleição para este tratamento, o foco do uso da retroperfusão passou a ser a proteção do miocárdio isquêmico durante angioplastias de alto risco, situações estas associadas com um alto percentual de morbidade e mortalidade. Novos estudos em animais foram então necessários para preencher exigências dos órgãos federais e comissões de ética dos Hospitais, antes que novos testes em seres humanos pudessem ser feitos durante angioplastia coronária.

Após este período, novos estudos preliminares foram realizados no laboratório de cateterismo, e a segurança da técnica foi então demonstrada. Estava então aberto o caminho para estudos em escala maior para testar a eficácia da técnica, o que foi realizado através de um estudo multicêntrico em pacientes submetidos a angioplastia de alto risco da artéria coronária descendente anterior.

Embora estes estudos iniciais tenham demonstrado a segurança da técnica, a eficácia em termos de melhoria da função ventricular e suporte hemodinâmico ficou um pouco aquém do esperado, tomando por base os estudos precedentes em cães. Por este motivo, houve um atraso na aprovação da retroperfusão pela agência reguladora americana FDA (“Food and Drug Administration”), impedindo o uso da retroperfusão em larga escala. Hoje, o sistema continua em vias de tramitação para aprovação para uso clínico, tendo sido incorporado ao equipamento um dispositivo para uso opcional, o qual regula os ciclos de insuflação do balonete do catéter de retroperfusão, a fim de aumentar a pressão no sistema venoso coronário e melhorar a eficiência da retroperfusão. Este novo sistema permite que várias impulsões da bomba de retroperfusão possam ocorrer sem que haja desinsuflação do balonete do catéter de retroperfusão.

É importante ressaltar que no transcorrer destas pesquisas surgiram novas modalidades de retroperfusão, como o uso de retroinfusão de fármacos para proteção do miocárdio isquêmico, e o desenvolvimento importante das técnicas de cardioplegia retrógrada para proteção miocárdica durante certos tipos de cirurgia cardíaca.

Em relação ao uso de drogas pelo sistema venoso coronário, cujos estudos experimentais demonstraram um aumento significativo na concentração de várias drogas no miocárdio isquêmico, há uma boa perspectiva para o uso desta técnica em situações de isquemia aguda incontrolável, e em pacientes que desenvolvem infarto ou isquemia miocárdica severa durante cirurgias não-cardíacas de grande porte; além disto há espaço para o aperfeiçoamento no uso da cardioplegia retrógrada através de melhorias na composição das soluções cardioplégicas e no uso retrógrado de drogas no período inicial após retomada dos batimentos cardíacos, com repercussões importantes na recuperação da função ventricular após cirurgia cardíaca.

## 8 CONCLUSÕES

Dos estudos aqui apresentados em relação ao uso da retroperfusão diastólica sincronizada do miocárdio no infarto agudo do miocárdio experimental pode-se concluir o seguinte:

- 1º) a técnica é segura, não causando danos à circulação venosa ou aos elementos sanguíneos, e sem causar também hemorragia ou dano ao miocárdio, ou arritmias cardíacas;
- 2º) a retroperfusão melhora alguns parâmetros hemodinâmicos em cães com infarto agudo do miocárdio;
- 3º) a retroperfusão diastólica sincronizada reduz o tamanho do infarto, sendo ela instituída precocemente ou mais tardiamente após oclusão arterial coronária;
- 4º) a retroperfusão sincronizada hipotérmica é segura, diminuindo a temperatura regional do miocárdio isquêmico após oclusão arterial coronária aguda em cães, potencializando a redução do tamanho do infarto em relação à retroperfusão normotérmica.
- 5º) a retroperfusão sincronizada hipotérmica, quando utilizada poucos minutos antes da reperfusão arterial coronária, previne a injúria da reperfusão observada em cães submetidos a oclusão arterial coronária aguda seguida de recanalização.

Em relação ao uso de retroinfusão de drogas cardioativas em cães submetidos a oclusão arterial coronária aguda, os achados experimentais indicam o seguinte:

- 1º) A análise farmacocinética da retroinfusão demonstra um acúmulo tecidual da droga retroinfundida nas regiões isquêmicas em cães e porcos submetidos a oclusão arterial coronária aguda;
- 2º) A retroinfusão de agentes cardioprotetores como a prostaglandina E.1, a deferroxamina e a adenosina demonstram uma redução no tamanho da área infartada;

- 3º) A retroinfusão de baixas doses de agentes trombolíticos como a estreptoquinase causam lise do trombo arterial coronário induzido em cães com tórax fechado; esta trombólise ocorre mais precocemente comparada à administração sistêmica, por via endovenosa.

Os estudos clínicos da retroperfusão sincronizada do miocárdio em pacientes submetidos a angioplastia demonstram o seguinte:

- 1º) A retroperfusão é segura nestes pacientes, não causando danos as estruturas cardíacas ou aos elementos sanguíneos, e não causa arritmias cardíacas;
- 2º) A retroperfusão reduz a isquemia miocárdica observada durante a insuflação do balonete do catéter de angioplastia, tanto em pacientes com angina crônica estável como em pacientes com angina instável;
- 3º) Em pacientes com angina instável, foi possível documentar não só melhora na isquemia miocárdica, mas também na função ventricular esquerda.

## 9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 001-Gray H: Gray's Anatomy, 36 th edition, Churchill Livingstone, 1980
- 002-Mechanik N: Das Venensystem der Herzwannde; 2schr Anat Entw Gesch: 103, 813-843, 1934
- 003-Marshall J: On the development of the great cardiac veins in man and mammalia, Philosoph Transactions Royal Soc, 133-170, 1850.
- 004-Mierzwa J, Kozielect T: Variations of the anterior cardiac veins and their orifices in the right atrium in man. Fol Morph (Warsovia) 34: 125-132, 1975
- 005-Bochdalek J: Anatomie des menschlichen Herzens, Arch Anat Physiol: 302-325, 1868.
- 006-Wearn JT: The role of the Thebesius vessels in the circulation of the heart. J Exper Med 47: 293-316, 1928.
- 007-Bohning A, Jochim K, Katz LN: The Thebesian vessels as a source of nourishment for the myocardium. Amer J Physiol 106: 183-200, 1933.
- 008-Yater WM: Variations and anomalies of the venous valves of the right atrium of the human heart. Arch of Path 7: 418-441, 1929.
- 009-Hellerstein HK, Orbison JL: Anatomic variations of the orifice of the human coronary sinus. Circulation 3: 514-523, 1951.
- 010-Anrep GV, Cruickshank EWH, Downing AC, Rau AS: The Heart 14: 111-133, 1927.
- 011-Spaan JAE, Breuls NPW, Laird JD: Diastolic -systolic coronary flow differences are caused by intramyocardial pump action in the anesthetized dog, Circulation Research 49 (3): 584-593, 1981.
- 012-Tamonaga G, Tsujioka K, Ogasawara Y, Goto M, Nakai M, Tadaoka S and Kajiya F: Evaluation of phasic blood flow velocity in peripheral coronary veins by laser Doppler velocimeter. Circulation 68, suppl III: III-203; 1984.
- 013-Snyder R, Downey JM, Kirk ES. The active and passive components of extravascular coronary resistance. Cardio Res 9:161-166, 1975.
- 014-Stein PD, Marzilli M, Sabbah HN, Lee T. Diastolic pressure gradients within the left ventricular wall. Am. J. Physiol. 238, H625-H630, 1980.
- 015-Bellamy RF. Diastolic coronary artery pressure-flow relations in the dog. Circ Res 43: 92-101, 1978.

- 016-Armour JA, Klassen GA. Epicardial coronary venous pressure. Can J Physiol Pharmacol 59: 1250-1259, 1981.
- 017-Thebesius AC. De circulo sanguine in corde: Leiden, 1703.
- 018-Pratt FH. The nutrition of the heart through the vessels of Thebesius and coronary veins. Am J Physiol 1:86-103, 1893.
- 019-Beck CS, Stanton E, Batiuchok W and Leiter E. Revascularization of the heart by graft of systemic artery into coronary sinus. JAMA 137: 436-442, 1948.
- 020-Gregg DE, deWald D: The immediate effects of occlusion of the coronary veins on coronary blood flow in the coronary arteries. Am J Physiol 124:435-443, 1938.
- 021-Bhayana SN, Olsen DB, Byrne JP, Kolff WS. Reversal of myocardial ischemia by arterialization of the coronary vein. J Thor Cardio Surg 67: 125-131, 1974.
- 022-Hochberg MS. Hemodynamic evaluation of selective arterialization of the coronary venous system: An experimental study of myocardial perfusion using radioactive microspheres. J Thor Cardio Surg 74: 774-780, 1977.
- 023-Hochberg MS, Roberts WC, Morrow AG, Austen WG. Selective arterialization of the coronary venous system: encouraging long term flow evaluation utilizing radioactive microspheres. Thor Cardio Surg 77:1-8, 1979.
- 024-Benedict JS, Buhl TG, Henney RP. Cardiac vein myocardial revascularization: an experimental study and report of three clinical cases. Annals Thor Surg 20:550-555, 1975.
- 025-Park SB, Magovern EJ, Liebler GA, Dixon CM, Begg FR, Fischer DL, Dosios TJ, Gardner RS. Direct selective myocardial revascularization by internal mammary artery-coronary vein anastomosis. J Thor Cardiovasc Surg 69:63-70, 1975.
- 026-Tziroglou AG, Raphael SS, Troulinos AE, Arealis EG. Attempts to increase the blood supply to an acutely ischemic area of the myocardium by intermittent occlusion of the coronary sinus. Proc Europ Soc Artif Org (ESAO) 6:45-49, 1979.
- 027-Mohl W, Huberzeth K, Pachinger O, Losert U, Wolner E. Experimental studies of the influence of pressure-controlled intermittent coronary sinus occlusion on ischemic myocardium. Thor Cardio Surg 29: 18-23, 1981.
- 028-Mohl W. The development and rationale of pressure-controlled intermittent coronary sinus occlusion: a new approach to protect ischemic myocardium. Wien Klin Wschr 96:20-25, 1984.
- 029-Kenner T, Moser M, Mohl W. Arterio-venous difference of the blood density in the coronary circulation. Proc Amer Soc Mec Eng 67-70, 1983.

- 030-Kenner T, Leopold H, Hinghofer-Sealkan H. The continuous high precision measurement of the density of flowing blood. Pflugers Arch 370:25-29,1977.
- 031-Mohl W, Glogar D, Kenner T, Klepetko W, Moritz A, Moser M, Muller M, Schuster J, Wolner E. Enhancement of washout induced by pressure-controlled intermittent coronary sinus occlusion (PICSO) in the canine and human heart. Proc Int Symp Myoc Protection via the coronary sinus, pp537-548, Springer Verlag, 1984.
- 032-Meerbaum S, Lang TW, Osher JV, Hashimoto K, Lewis GW, Feldstein C, Corday E. Diastolic retroperfusion of acutely ischemic myocardium. Am J Cardiol 37: 588-598, 1976.
- 033-Taira Y, Kanaide H, Nakamura M. Coronary venous perfusion of the ischemic myocardium during acute coronary artery occlusion in isolated rat hearts. Circ Res 56:666-675,1985.
- 034-Maurer G, Punzengruber C, Haendchen RV, Torres M, Meerbaum S, Corday E. Retrograde coronary venous contrast echocardiography: Assessment of shunting and delineation of regional myocardium in the normal and ischemic canine heart. J Am Coll Cardiol 4: 577-586,1984.
- 035-Sharff SS, Bromberger-Barnea B, Permutt S. Distribution of coronary venous flow. J Appl Physiol 30:657-662,1971.
- 036-Tencate FJ, Cornell JH, Serruys PW, Vletter WB, DeJong N, Mittertreiner WA. Drainage of myocardium by Thebesius veins: clinical visualization by myocardium contrast echocardiography. Circulation 80,suppl II, II-369(abstr),1989.
- 037-Zwehl W, Klauss V, Kreuser E, Mudra H, Angermann C, Theisen K. Immediate assessment of coronary bypass perfusion by intraoperative echocardiography. Circulation 80, suppl II, II-371 (abstr),1989
- 038-Faxon DP, Jacobs AK, Kellet MA, McSweeney M, Coats WD, Ryan RJ. Coronary sinus occlusion pressure and its relation to intracardiac pressure. Am J Cardiol 56:457-460,1985.
- 039-Farcot JC, Meerbaum S, Lang TW, Kaplan C, Corday E. Synchronized retroperfusion of the coronary veins for circulatory support of jeopardized ischemic myocardium. Am. J Cardiol 41: 1191-1201, 1978.
- 040-Gore JM, Weiner BH, Benotti JR, Sloan KM, Okike ON, Cuenoud HF, Gaca JM, Alpert JS, Dalen JE. Preliminary experience with synchronized coronary sinus retroperfusion in humans. Circulation 74: 381-388, 1986.

- 041-Chang BC, Drury JK, Meerbaum S, Fishbein MC, Whitting JS, Corday E. Enhanced myocardial washout and retrograde blood delivery with synchronized retroperfusion during acute myocardial ischemia. J Am Coll Cardiol 9: 1091-1098, 1987.
- 042-Maroko PR, Kjekshus JK, Sobel BE, Watanabe T, Covell JM, Ross Jr J, Braunwald E. Factors influencing infarct size following experimental coronary artery occlusions. Circulation 43: 67-82, 1971.
- 043-Haendchen RV, Wyatt HL, Maurer G, Bear M, Meerbaum S, Corday E. Quantitation of regional cardiac function by two-dimensional echocardiography: patterns of contraction in the normal left ventricle. Circulation 67, 1235-1245, 1983.
- 044-Fishbein MC, Meerbaum S, Rit JY, Ganz W, Corday E. Early phase acute myocardial infarct size quantitations: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. Am Heart J 101: 593-600, 1981.
- 045-Delin NA, Pollack L, Kjartansson KB, Whorthington GS. Cardiac performance in hypothermia: an experimental study of left ventricular power, oxygen consumption and efficiency in dogs. J Thor Cardio Surg 47, 774-780, 1964.
- 046-Kuhn LW, Weiser FM, D'Aria J, Apter R. Hemodynamic and metabolic effects of hypothermia and extracorporeal circulation in experimental myocardial infarction and shock. Circ Res 10, 916-926, 1962.
- 047-Moutitzen CV, Anderson MN. Mechanism of ventricular fibrillation during hypothermia. J Thor Cardio Surg 51, 585-590, 1966.
- 048-Blair E. Clinical hypothermia. New York, McGraw-Hill publ., 1964.
- 049-Mangardi JC, Aiken JE, Behrer A, Foche JE. Coronary blood flow during moderate and profound hypothermia. J Cardiovas Res 6, 349-355, 1966.
- 050-Abenschein DR, Tacker WA Jr, Babbs CF. Protection of ischemic myocardium by whole body hypothermia after coronary artery occlusion in dogs. Am Heart J 96, 772-778, 1978.
- 051-Bigelow W6, Lindsay WK, Greenwood WF. Hypothermia: it's possible role in cardiac surgery. Ann Surg 132: 849-866, 1950.
- 052-Kuo CS, Munakata K, Reddy CP, Surawicz B. Characteristics and possible mechanism of ventricular arrhythmia dependent on the dispersion of action potential durations. Circulation 67: 1356-1367, 1983.
- 053- Topol ES. Emergency strategies for failed percutaneous transluminal coronary angioplasty. Am J Cardiol 63: 249-250, 1989.

- 054-Lazar HL. Coronary sinus interventions during cardiac surgery. Ann Thor Surg 46: 475-482, 1988.
- 055-Menasche P, Piwnica A. Cardioplegia by way of the coronary sinus for valvular and coronary surgery. J Am Coll Card 18: 628-636, 1991.
- 056-Silverman NA, Schmidt G, Levitsky S, Feinberg H. Effect of coronary artery occlusion on myocardial protection by retroperfusion of cardioplegic solutions. J Surg Res 39: 164-171, 1985.
- 057-Chitwood WR. Myocardial protection by retrograde cardioplegia: coronary sinus and right atrial methods. In: Cardiac Surgery: State of the art reviews, vol 2. Philadelphia; Hanley and Belfus, 197-218, 1988.
- 058-Becker H, Vinten-Johansen S, Buckberg GD, Follette DM, Robertson JM. Critical importance of ensuring cardioplegic delivery with coronary stenoses. J Thor Cardio Surg 81: 507-515, 1981.
- 059-Hilton CS, Teubl W, Acker M. Inadequate cardioplegic protection with obstructed coronary arteries. Ann Thor Surg 28: 323-334, 1979.
- 060-Dorsey LM, Colgan TK, Silverstein JI, Hatcher CR, Guyton RA. Alterations in regional myocardial junction after heterogeneous cardioplegia. J Thor Cardio Surg 86: 70-79, 1983.
- 061-Rand P, Lacombe E, Hunt H, Austin W. Viscosity of normal human blood under normothermic and hypothermic conditions. J Appl Physiol 19: 117-122, 1964.
- 062-Wyatt HL, Heng MK, Meerbaum S, Corday E. Cross-sectional echocardiography. I-Analysis of mathematical models for quantifying mass of the left ventricle in dogs. Circulation 60: 1104-1113, 1979.
- 063-Wyatt HL, Haendchen RV, Meerbaum S, Corday E. Assessment of quantitative methods for 2-dimensional echocardiography. Am J Cardiol 52: 346-401, 1983.
- 064-Meerbaum S, Haendchen R V, Corday E, Povzhitkov M, Fishbein MC, Rit J, Lang TW, Uchiyama T, Aosaki N, Broffman J. Hypothermic coronary venous phased retroperfusion: A closed-chest treatment of acute regional myocardial ischemia. Circulation 65;1435-1445, 1981.
- 065-Wakida Y, Haendchen RV, Kobayashi S, Nordlander R, Corday E. Percutaneous cooling of ischemic myocardium by hypothermic retroperfusion of autologous arterial blood: effects on regional myocardium temperature distribution and infarct size. J Am Coll Cardiol 18: 293-300, 1991.
- 066-Kloner RA, Ganote CE, Jennings RB. The no-reflow phenomenon after temporary coronary occlusion in the dog. J Clin Invest 54: 1496-1508, 1974.

- 067-Lang TW, Corday E, Gold H, Meerbaum S. Consequences of reperfusion after coronary occlusion. Am J Cardiol 33: 69-81, 1974.
- 068-Willerson JT, Wetson JT, Hutton I, Templeton GH, Fixler DE. Reduced myocardial reflow and increased coronary vascular resistance following prolonged myocardial ischemia in the dog. Circ Res 36: 771-778, 1975.
- 069-Nellis SG, Roberts BH, Kinney EL, Field J, Ummet A, Zelis R. Beneficial effect of dexamethasone on the no-reflow phenomenon in canine myocardium. Cardiovasc Res 14: 137-141, 1980.
- 070-da Luz PL, Forrester JS, Hyatt HL, Diamond G, Cheng M, Swan HJC. Myocardial reperfusion in experimental myocardial ischemia: beneficial effects of prior treatment with steroids. Circulation 53: 847-852, 1976.
- 071-Sherman LG, Liang CS, Boden WE, Hood JB. The effect of verapamil on mechanical performance of acutely ischemic and reperfused myocardium in the conscious dog. Circ Res 48: 224-232, 1981.
- 072-Neyler WG, Ferrari R, Williams A. Protective effect of pretreatment with verapamil, nifedipine and propranolol on mitochondrial function in the ischemic and reperfused myocardium. Am J Cardiol 46: 242-248, 1980.
- 073-Mori A, Jono J, Ando F. Effect of intra-aortic balloon pumping and calcium antagonist for reducing coronary reperfusion injury. Jap Circ J 45: 419-426, 1981.
- 074-Reimer KA, Lower JE, Rasmussen MM, Jennings RB. The wave-front phenomenon of ischemic cell death. I- Myocardium infarct size versus duration of coronary occlusion in dogs. Circulation 56: 786-793, 1977.
- 075-Murphy ML, Peng CF, Kane JJ, Straub KD. Ventricular performance and biochemical alterations of regional ischemic myocardium after reperfusion in the pig. Am J Cardiol 50: 821-828, 1982.
- 076-Haendchen RV, Corday E, Torres M, Maurer G, Fishbein MC, Meerbaum S. Increased regional end-diastolic wall thickness early after reperfusion: a sign of irreversibly damaged myocardium. J Am Coll Cardiol 3: 1444-1453, 1984.
- 077-Higginson LAJ, White F, Hoggteit HA, Sanders TM, Bloor CM, Covell JW. Determinants of myocardial hemorrhage after coronary reperfusion in the anesthetized dog. Circulation 65: 62-69, 1982.
- 078-Reimer KA, Jennings RB. The changing anatomic reference base of evolving myocardial infarction: underestimation of myocardial collateral flow and overestimation of experimental anatomic infarct size due to tissue edema, hemorrhage and acute inflammation. Circulation 60: 866-873, 1979.

- 079-Fishbein MC, Rit J, Land U, Kammatsuse K, Mercier JC, Ganz W. The relationship of vascular injury and myocardial hemorrhage to necrosis after reperfusion. Circulation 62: 1274-1279, 1980.
- 080-Gaasch WH, Bing OHL, Pine MB. Myocardial contracture during prolonged ischemic arrest and reperfusion. Am J Physiol, 235: H 619-H627, 1978.
- 081-Pirzada FA, Weiner JM, Hood WB. Experimental myocardial infarction: accelerated stiffening related to coronary reperfusion following ischemia. Chest 74: 190-199, 1978.
- 082-Cooley DA, Reul GJ, Wukasch DC. Ischemic contracture of the heart: "stone heart". Am J Cardiol 29: 575-578, 1972.
- 083-Gavin JB, Nevalainen TJ, Seelye RN, Webster V, Thomson RW. An association between the onset of rigor and loss of vascular competence in early myocardial infarcts. Pathology 10: 103-111, 1978.
- 084-Fujiwara H, Onodera T, Tanaka M, Fujiwara T, Wu DJ, Kawai C, Hamashima Y. A clinicopathologic study of patients with hemorrhagic myocardial infarction treated with selective coronary thrombolysis with urokinase. Circulation 73: 749-757, 1986.
- 085-Wakida Y, Nordlander R, Kobayashi S, Kar S, Haendchen RV, Corday E. Short term synchronized retroperfusion before reperfusion reduces infarct size after prolonged ischemia in dogs. Circulation 88: 2370-2380, 1993.
- 086-Bresnahan GF, Roberts R, Shell WE, Sobel BE. Deleterious effects due to hemorrhage after myocardial reperfusion. Am J Cardiol 33: 82-86, 1974.
- 087-Henry PD, Schuchleib R, Davis J, Weiss ES, Sobel BE. Myocardial contracture and accumulation of mitochondrial calcium in ischemic rabbit heart. Am J Physiol 233. H677-H683, 1977.
- 088-Haendchen RV, Corday E, Meerbaum S, Povzhitkov M, Rit J, Fishbein MC. Prevention of ischemic injury and early reperfusion derangements by hypothermic retroperfusion. J Am Coll Cardiol 4: 1067-1080, 1983.
- 089-Nayler WG, Elz JS. Reperfusion injury: laboratory artifact or clinical dilemma? Circulation 74: 215-221, 1986.
- 090-Matsuda M, Fujiwara H, Onodera T, Tanaka M, Wu DJ, Fujiwara T, Hamashima Y, Kawai C. Quantitative analysis of infarct size, contraction band necrosis and coagulation necrosis in human autopsied hearts with acute myocardial infarction after treatment with selective intracoronary thrombolysis. Circulation 76: 981-989, 1987.

- 091-Mauri F, de Biase AM, Franzosi MG, Pampallona S, Foresti A, Gasparini M. In-hospital causes of death in patients admitted to the GISSI Study. G Ital Cardiol 17: 37-44, 1987.
- 092-Gertz SD, Kalan JM, Kragel AH, Roberts WC, Braunwald E. Cardiac morphologic findings in patients with acute myocardial infarction treated with recombinant tissue plasminogen activator. Am J Cardiol 65: 953-961, 1990.
- 093-Opie LH. Reperfusion injury and its pharmacologic modification. Circulation 80: 1049-1062, 1989.
- 094-Whalen DA, Hamilton DG, Ganote CE, Jennings RB. Effect of a transient period of ischemia on myocardial cells. I. Effects on cell volume regulation. Am J Pathol 74: 399-420, 1974.
- 095-Willerson JT, Scales F, Mukherjee A. Abnormal fluid retention as an early manifestation of ischemic injury. Am J Pathol 87: 159-188, 1977.
- 096-Gavin JB, Seelye RN, Nevalainen TJ, Armiger LC. The effect of ischemia on the function and fine structure of the microvasculature of myocardium. Pathology 10: 103-111, 1978.
- 097-Hearse DJ, Humphrey SM, Bullock GR. The oxygen paradox and the calcium paradox: two facets of the same problem? J Moll Cell Cardiol 10: 641-668, 1978.
- 098-Zimmerman ANE, Halsmann WC. Paradoxical influence of calcium ions on the permeability of the isolated rat heart. Nature 211: 646-647, 1960.
- 099-Opie LH, Caetsee WA. Role of calcium ions in reperfusion arrhythmias: relevance to pharmacological intervention. Cardiovasc Drugs Ther 2: 623-636, 1988.
- 100-Tranum-Jensen J, Janse MJ, Fiolet JWT, Krieger WJG, D'Al-noncourt CN, Durrer D. Tissue osmolality, cell swelling and reperfusion in acute regional myocardial ischemia in the isolated porcine heart. Circ Res 49: 364-381, 1981.
- 101-Willerson JT, Watson JT, Hutton I, Fixler DE, Curry GC, Templeton GH. The influence of hypertonic mannitol on regional myocardial blood flow during acute and chronic myocardial ischemia in anesthetized and awake intact dogs. J Clin Invest 55: 892-902, 1975.
- 102-Powell WR, Dibona DR, Flores J, Leaf A. The protective effects of hyperosmotic mannitol in myocardial ischemia and necrosis. Circulation 54: 603-615, 1976.
- 103-Nayler WG, Ferrari R, Williams A. Protective effect of pre-treatment with verapamil, nifedipine and propranolol on mitochondrial function in the ischemic and reperfused myocardium. Am J Cardiol 46: 242-248, 1980.

- 104-Fitzpatrick DB, Karmazyn M. Comparative effects of calcium channel blocking agents and varying extracellular calcium concentration on hypoxia/reoxygenation and ischemia/reperfusion-induced cardiac injury. J Pharmacol Exp Ther 228: 761-768, 1984.
- 105-Knabb RM, Rosamand TL, Fox KAA. Enhancement of salvage of reperfused ischemic myocardium by diltizem. J Am Coll Cardiol 8: 861-871, 1986.
- 106-Reperfusion injury after thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. Lancet (editorial): I: 655-657, 1989.
- 107-Thomson JA, Hess ML. The oxygen free radical system: a fundamental mechanism in the production of myocardial necrosis. Prog Cardiovasc Dis 28: 449-462, 1986.
- 108-Kloner RA, Przyklenk K, Whitaker P. Deleterious effects of oxygen radicals in ischemia/reperfusion. Circulation 80: 1115-1127, 1989.
- 109-Simpson PJ, Lucchesi BR. Free radicals and myocardial ischemia and reperfusion injury. J Lab Clin Med 110: 13-30, 1987.
- 110-Weisfeldt ML. Reperfusion and reperfusion injury. Clin Res 35: 13-30, 1987.
- 111-Braunwald E, Kloner RA. Myocardial reperfusion: A double edged sword? J Clin Invest 76: 1713-1719, 1985.
- 112-Engler RL, Dahlgren MD, Peterson M, Dobbs A, Schmid-Schoenheim GW. Accumulation of polymorphonuclear leukocytes during 3 hour experimental myocardial ischemia. Am J Physiol 251: H93-H100, 1986.
- 113-Engler R, Covell JW. Granulocytes cause reperfusion ventricular dysfunction after 15 min of ischemia in the dog. Circ Res 61: 20-28, 1987.
- 114-Chatelain P, Latour JG, Lorgèril MD, Dupras G, Bourassa M. Neutrophil accumulation in experimental myocardial infarcts: relation with extent of injury and effect of reperfusion. Circulation 75: 1083-1090, 1987.
- 115-Werns SW, Shea MJ, Lucchesi BR. Free radicals in ischemic myocardial injury. Free Rad Biol Med 1: 103-110, 1985.
- 116-McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. N Engl J Med 312: 159-163, 1985.
- 117-Engler RE, Schmid-Schoenheim GW, Pavelee RS. Leukocyte capillary plugging in myocardial ischemia and reperfusion in the dog. Am J Pathol 111: 98-111, 1983.

- 118-Berdeaux A, Farcot JC, Bourdarias JP, Barry M, Bardet J, Giudicelli JF. Effects of diastolic synchronized retroperfusion on regional coronary blood flow in experimental myocardial ischemia. Am J Cardiol 47: 1033-1040, 1981.
- 119-Cohen MV, Matsuki T, Downey JM. Coronary venous retroperfusion: effects on myocardial nutritive blood flow. J Am Coll Cardiol 11: 65A, 1988.
- 120-Zweier JL, Flaherty JT, Weisfeldt MC. Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. Proc Natl Acad Sci 84: 1404-1407, 1987.
- 121-Chi L, Tamura Y, Hoff PT, Macha M, Gallagher KP, Schork MA, Lucchesi BR. Effect of superoxide dismutase on myocardial infarct size in the canine heart after 6 hours of regional ischemia and reperfusion: a demonstration of myocardial salvage. Circ Res 64: 665-675, 1988.
- 122-Ambrosio G, Becker LC, Hutchins GM, Weissman HF, Weisfeldt ML. Reduction in experimental infarct size by recombinant human superoxide dismutase: insights into the pathophysiology of reperfusion injury. Circulation 74: 1424-1433, 1986.
- 123-Yamazaki S, Fujibayashi Y, Rajagopalan RE, Meerbaum S, Corday E. Effects of staged versus sudden reperfusion after acute coronary occlusion in the dog. J Am Coll Cardiol 7: 564-572, 1986.
- 124-Peng CF, Murphy ML, Caldwell K, Straub KD. Controlled versus hyperemic flow during reperfusion of jeopardized ischemic myocardium. Am Heart J 117: 515-522, 1989.
- 125-Lefkowitz CA, Pace DP, Gallagher kp, Buda AJ. The effects of a critical stenosis on myocardial blood flow, ventricular function and infarct size after coronary reperfusion. Circulation 77: 915-926, 1988.
- 126-Guerci AD, Ciuffo AA, Dipaula AF, Weisfeldt ML. Intermittent coronary sinus occlusion in dogs: reduction of infarct size 10 days after reperfusion. J Am Coll Cardiol 9: 1075-1081, 1987.
- 127-Jolly SR, Kane WJ, Hook BR, Abrams GD, Kunkel SL, Lucchesi BR. Reduction of myocardial infarct size by neutrophyl depletion: effect of duration of occlusion. Am Heart J 112: 682-690, 1986.
- 128-Schaer GL, Karas SP, Santoian EC, Gold C, Visner MS, Virmani R. Reduction in reperfusion injury by blood-free reperfusion after experimental myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 15: 1385-1393, 1990.
- 129-O'Byrne G, Nienaber CA, Miyazaki A, Araujo L, Fishbein MC, Corday E, Shelbert HR. Positron emission tomography demonstrates that coronary sinus retroperfusion can restore regional myocardial perfusion and preserve metabolism. J Am Coll Cardiol 18: 257-270, 1991.

- 130-Cibulski AA, Markov A, Lehan PH. Retrograde radioisotope myocardial perfusion patterns in dogs. Am J Cardiol 34: 545-551, 1974.
- 131-Ganz W, Watanabe I, Kanemasa K, Yano J, Han D, Fishbein MC. Does reperfusion extend necrosis? A study in a single territory of myocardial ischemia half reperfused and half not reperfused. Circulation 82: 1020-1033, 1990.
- 132-Alexander RW, Kent KM, Pisano JJ, Keiser HR, Cooper T. Regulation of post-occlusion hyperemia by endogenously synthesized prostaglandin in the dog heart. J Clin Invest 55: 1174-1181, 1975.
- 133-Ogletree ML, Flynn JT, Feola M, Lefer AM. Early prostaglandin release from ischemic myocardium. Surg Gynecol Obstet 144: 737-740, 1977
- 134-Nutter DO, Crumly HJ. Canine coronary vascular and cardiac responses to the prostaglandins. Cardiovasc Res 6: 217-225, 1972
- 135-Row GG, Alfonso S. Systemic and coronary hemodynamic effects of intracoronary administration of prostaglandins E1 and E2. Am Heart J 88: 55-60, 1974
- 136-Meyer DK, Purdy FA. Cardiac glycogen of rats during and following acute anoxia. Am J Physiol 200: 860-865, 1961.
- 137-Meerbaum S, Fishbein MC, Rit J, Haendchen RV, Corday E. Two dimensional echo measurement of regional cardiac function vs. histochemical delineation of acutely ischemic myocardium. Clin Res 29: 222A-223A, 1981.
- 138-Ogletree ML, Lefer AM. Prostaglandin-induced preservation of the ischemic myocardium. Circ Res 42: 218-224, 1978.
- 139-Papat KD, Pitt B. Hemodynamic effects of prostaglandin E1 infusion in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction. Am Heart J 103: 485-489, 1982.
- 140-Needleman P, Kaley B. Cardiac and coronary prostaglandins synthesis and function. N Engl J Med 29: 1122-1128, 1978.
- 141-DeWood M, Spores J, Notske R. Prevalence of total coronary occlusion during the early hours of transmural myocardium infarction. N Engl J Med 303: 897-902, 1980.
- 142-Rentrop KP, Blanke H, Karsch H. Acute myocardial infarction: intracoronary application of nitroglycerin and streptokinase. Clin Cardiol 2: 354-363, 1979.
- 143-Ganz W, Buchbinder N, Marcus H. Intracoronary thrombolysis in evolving myocardial infarction. Am Heart J 101: 4-13, 1981.

- 144-Mathey DG, Kuck KH, Tilsner V, Kriebber HJ, Bleifeld W. Non-surgical coronary artery recanalization in acute transmural myocardial infarction. Circulation 63: 489-497, 1981.
- 145-Markis JE, Malagold MM, Parker JA, Braunwald E. Myocardial salvage after intracoronary streptokinase in acute myocardial infarction: assessment by intracoronary Thallium 201. N Engl J Med 305: 777-782, 1981.
- 146-Gruppo Italiano per lo studio della streptochinasi nell' infarto miocárdio (GISSI). Effectiveness of intravenous thrombolytic treatment in acute myocardial infarction. Lancet 1: 397-402, 1986.
- 147-ISIS (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group, Randomized Trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both or neither among 17187 of suspected acute myocardial infarction. ISIS 2. Lancet 2: 349-360, 1988.
- 148-AIMS Trial Study Group. Long term effects of intravenous anistreplase in acute myocardial infarction: final report of the AIMS study. Lancet 2: 427-431, 1990.
- 149-Kordenat RK, Kezdi P, Stanley EL. A new catheter technique for producing experimental coronary thrombosis and selective visualization. Am Heart J 83: 360-364, 1972.
- 150-Povzhitkov M, Haendchen RV, Meerbaum S, Rit J, Fishbein MC, Corday E. Mannitol coronary venous retroperfusion: improvement in ischemic left ventricular function in acute coronary occlusion. Clin Res 30: 17A-21A, 1982.
- 151-Meerbaum S, Lang TW, Povzhitkov M, Haendchen RV, Uchiyama T, Corday E. Retrograde lysis of coronary artery thrombus by coronary venous streptokinase administration. J Am Coll Cardiol 1: 1262-1267, 1983.
- 152-Povzhitkov M, Haendchen RV, Meerbaum S, Fishbein MC, Shell W, Corday E. Prostaglandin E-1 coronary venous retroperfusion in acute myocardial ischemia: effects on regional left ventricular function and infarct size. J Am Coll Cardiol 3: 939-947, 1984.
- 153-Hatori N, Miyazaki A, Tadokoro H, Meerbaum S, Corday E. Beneficial effects of coronary venous retroinfusion of superoxide dismutase and catalase on reperfusion arrhythmias, myocardial function and infarct size in dogs. J Cardiovasc Pharmacol 14: 396-404, 1989.
- 154-Wappel M, Zalewski A, Savage M, Hessen S, Goldberg S, Maroko PR. Myocardial salvage after regional beta-adrenergic blockade. Am Heart J 117: 37-42, 1989.
- 155-Miyazaki A, Hatori N, Tadokoro H, Ryden L, Corday E, Drury JK. More rapid thrombolysis with coronary venous retroinfusion of streptokinase compared to intravenous administration. Eur Heart J 11: 936-944, 1990.

- 156-Miyazaki A, Tadakoro H, Drury JK, Ryden L, Haendchen RV, Corday E. Retrograde coronary venous administration of recombinant tissue-type plasminogen activator: a unique and effective approach to coronary thrombolysis. J Am Coll Cardiol 18: 613-620, 1991.
- 157-Kobayashi S, Tadakoro H, Wakida Y, Kar S, Nordlander R, Haendchen RV, Corday E. Coronary venous retroinfusion of deferoxamine reduces infarct size in pigs. J Am Coll Cardiol 18: 621-627, 1991.
- 158-Harris AS. Delayed development of ventricular ectopic rhythms following experimental coronary artery occlusion. Circulation 1: 1318-1328, 1950.
- 159-Ervik M, Kylberg-Hanssen K, Johansson L. Determination of metoprolol in plasma and urine by high-resolution gas chromatography and electroncapture detection. J Chromatogr 381: 168-174, 1986.
- 160-Ervik M, Hoffman KJ, Kylberg-Hanssen K. Selected ion monitoring of metoprolol and two metabolites in plasma and urine using deuterated internal standards. Biomed Mass Spectrom 8: 322-326, 1981.
- 161-Balmer K, Zhang Y, Lagerstrom PO, Persson BA. Determination of metoprolol and two major metabolites in plasma and urine by column liquid chromatography and fluorometric detection. J Chromatogr 417: 357-365, 1987.
- 162-Snedecor GW, Cochran WG. Statistical Methods. 7th Ed, Ames IA: Iowa State University Press, 1980: 274-297.
- 163-Keselman HJ, Keselman JC. The analysis of repeated measures designs in medical research. Stat Med 3: 185-195, 1984.
- 164-Conover WJ, Iman RL. Rank transformation as a bridge parametric and nonparametric statistics. Am Statistician 35: 124-133, 1981.
- 165-Karaguenzian HS, Ohta M, Drury JK, Corday E, Mandell W, Peter T. Coronary venous retroinfusion of procainamide: a new approach for the management of spontaneous and inducible sustained ventricular tachycardia during myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 7: 551-563, 1987.
- 166-Ryden L, Tadakoro H, Sjoquist PO, Kar S, Ervik M, Corday E. Pronounced accumulation of metoprolol in ischemic myocardium following coronary venous retroinfusion. J Cardiovasc Pharmacol 15: 22-28, 1990.
- 167-Horowitz JD, Powell AC. Myocardial uptake of drugs and clinical effects. Clin Pharmacokinet 11: 354-371, 1986.
- 168-Ablad B, Abrahamsson T, Adler G. Cardiac anti-ischemic effect of metoprolol: role of beta-blockade within the ischemic region. J Cardiovas Pharmacol 10(suppl 1): S117-125, 1987.

- 169-Knopf H, McDonald FM, Bischoff A, Hirche HJ, Addicks K. Effect of propranolol on early postischemia arrhythmias and noradrenaline and potassium release of ischemic myocardium in anesthetized pigs. J Cardiovasc Pharmacol 12(suppl 1): S41-47, 1988.
- 170-Siegel RJ, Fealy M, Edwalds G, Karaguenzian H, Fishbein MC. Immunohistochemical localization of procainamide in normal, ischemic and necrotic canine myocardium during acute experimental myocardial infarction. Am Heart J 113: 1383-1389, 1987.
- 171-Fujiwara H, Ashraf M, Sato S, Millard RW. Transmural cellular damage and blood flow distribution in early ischemia in pig hearts. Cir Res 51: 683-693, 1982
- 172-Klein HH, Schubothe M, Nebendahl K, Kreuzer H. Temporal and spatial development of myocardium infarcts in porcine hearts without significant collateral blood flow. Texas Heart Inst J, 11: 154-159, 1984.
- 173-Eng C, Cho S, Factor SM, Kirk ES. A nonflow basis for the vulnerability of the subendocardium. J Am Coll Cardiol 9: 374-379, 1987.
- 174-Hammond B, Hess ML. The oxygen free radical system: potential mediator of myocardial injury. J Am Coll Cardiol 6: 215-220, 1985.
- 175-Schlafer M, Kane PF, Wiggins VY, Kirsch MM. Possible role for cytotoxic oxygen metabolites in the pathogenesis of cardiac ischemic injury. Circulation 66(suppl 1), I-85-92, 1982.
- 176-Jolly SR, Kane WJ, Bailie MB, Abrams GD, Lucchesi. Canine myocardial reperfusion injury: its reduction the combined administration of superoxide dismutase and catalase. Circ Res 54: 277-285, 1984.
- 177-Werns SW, Shea MJ, Driscoll EM. The independent effects of oxygen radical scavengers on canine infarct size: reduction by superoxide dismutase but not catalase. Circ Res 56: 895-898, 1985.
- 178-Burton KP. Superoxide dismutase enhances recovery following myocardial ischemia. Am J Physiol 248: H637-643, 1985.
- 179-Akizuki S, Yoshida S, Chamber DE. Infarct size limitation by the xanthine oxidase inhibitor allopurinol in closed-chest dogs with small infarcts. Cardiovasc Res 19: 686-692, 1985.
- 180-Mitsos SE, Askew TE, Fantone JC. Protective effects of N-2-mercaptpropionyl glycine against myocardial reperfusion injury after neutrophil depletion in the dog: evidence for the role of intracellular-derived free radicals. Circulation 73: 1077-1086, 1986.

- 181-Myers CL, Weiss SJ, Kirsch MM, Shepard BM, Schlafer M. Effects of supplementing hypothermic crystalloid cardioplegic solution with catalase, superoxide dismutase, allopurinol, or deferoxamine on functional recovery of globally ischemic and reperfused isolated hearts. J Thor Cardiovasc Surg, 91: 281-289, 1986.
- 182-Ambrosio G, Zweier JL, Jacobus WE, Weisfeldt ML, Flaherty JT. Improvement of postischemic myocardial function and metabolism induced by administration of deferoxamine at the time of reflow: the role of iron in the pathogenesis of reperfusion injury. Circulation 76: 906-915, 1987.
- 183-Badlack SF, Simmons A, Turek J, Babbs CF. Protection from reperfusion injury in the isolated rat heart by postischemic deferoxamine and oxypurinol administration. Cardiovasc Res 21: 500-506, 1987.
- 184-Bolli R, Jeroudi MO, Patel BS. Marked reduction of free radical generation and contractile dysfunction by antioxidant therapy begun at the time of reperfusion: evidence that myocardial stunning is a manifestation of reperfusion injury. Circ Res 65: 607-622, 1989.
- 185-Reimer KA, Jennings RB. Failure of the xanthine oxidase inhibitor allopurinol to limit infarct size after ischemia and reperfusion in dogs. Circulation 71: 1069-1075, 1985.
- 186-Uraizee A, Reimer KA, Murry CE, Jennings RB. Failure of superoxide dismutase to limit size of myocardial infarction after 40 min of ischemia and 4 days of reperfusion in dogs. Circulation 75: 1237-1248, 1987.
- 187-Richard VJ, Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Therapy to reduce free radicals during early reperfusion does not limit the size of myocardial infarcts caused by 90 min of ischemia in dogs. Circulation 78: 473-480, 1988.
- 188-Klein HH, Pich S, Lindert S, Buchwald A, Nebendahl K, Kreuzer H. Intracoronary superoxide dismutase for the treatment of reperfusion injury: a blind randomized placebo-controlled trial of ischemic, reperfused porcine hearts. Basic Res Cardiol 83: 141-148, 1988.
- 189-Nejima J, Knight DR, Fallon JT. Superoxide dismutase reduces reperfusion arrhythmias but fails to salvage regional or myocardium at risk in conscious dogs. Circulation 70: 143-153, 1989.
- 190-Fridovich I. The biology of oxygen radicals. The superoxide radical is an agent of oxygen toxicity; superoxide dismutase provides an important defense. Science 201: 875-880, 1978.
- 191-Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. Biochem J 219: 1-14, 1984.

- 192-Gutteridge JMC, Richmond R, Halliwell B. Inhibition of iron catalysed formation of hydroxyl radicals from superoxide and lipid peroxidation by desferrioxamine. Biochem J 184: 469-472, 1979.
- 193-Bolli R, Patel BS, Zhu WX. The iron chelator desferrioxamine attenuates post ischemic ventricular dysfunction. Am J Physiol 253: H372-H380, 1987.
- 194-Menasche P, Grousset C, Gaudwel Y, Mouas C, Piwnica A. Prevention of hydroxyl radical formation: a critical concept for improving cardioplegia. Protective effects of deferoxamine. Circulation 76 (suppl V), V180-185, 1987.
- 195-Farber NE, Vercellotti GM, Jacob HS, Pieper GM, Gross GJ. Evidence for a role of iron-catalyzed oxidants in functional and metabolic stunning in the canine heart. Circ Res 63: 351-360, 1988.
- 196-Van der Kraaij AMM, Mostert LJ, Van Eijk HG, Koster JF. Iron load increases the susceptibility of rat to oxygen reperfusion damage: protection by the antioxidant cyanidanol-3 and deferoxamine. Circulation 80: 158-164, 1989.
- 197-Reddy BR, Kloner RA, Przyklenk K. Early treatment with deferoxamine limits myocardial ischemic reperfusion injury. Free Radic Biol Med 7: 45-52, 1989.
- 198-Menasche P, Pasquier C, Jaillon P, Piwnica A. Deferoxamine reduced neutrophil mediated free radical production during cardiopulmonary bypass in man. J Am Coll Cardiol 11: 171 A, 1988.
- 199-Ryden L, Tadokoro H, Sjoquist PO, Regardt C, Kobayashi S, Corday E, Drury JK. Pharmacokinetic analysis of coronary venous retroinfusion: a comparison with antegrade coronary artery drug administration using metoprolol as a tracer. J Am Coll Cardiol 18: 603-612, 1991.
- 200-Hatori N, Tadokoro H, Satomura K. Beneficial effects of coronary venous retroinfusion but not left atrial administration of superoxide dismutase on myocardial necrosis in pigs. Eur Heart J 12: 442-450, 1991.
- 201-Kuzuya T, Hoshida S, Kim Y. Detection of oxygen-derived free radical generation in the canine postischemic heart during late phase of reperfusion. Circ Res 66: 1160-1165, 1990.
- 202-Costantini C, Corday E, Lang TW, Meerbaum S. Revascularization after 3 hours of coronary arterial occlusion: effects on regional cardiac metabolic function and infarct size. Am J Cardiol 36: 368-384, 1975.
- 203-Kloner RA, Ellis SG, Lange R, Braunwald E. Studies of experimental coronary artery reperfusion: effects on infarct size, myocardial function, biochemistry, ultrastructure and microvascular damage. Circulation 68(suppl I) I-8-15, 1983.

- 204-Richie JC, Davis KB, Williams DC. Global and regional left ventricular function and tomographic perfusion: the Western Washington Intracoronary Streptokinase in Myocardial Infarction Trial. *Circulation* 70: 867-875, 1984.
- 205-Serruys PW, Simoons ML, Suryapranata H. Preservation of global and regional left ventricular function after early thrombolysis in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 7: 717-728, 1986.
- 206-White HD, Norris RM, Brown MA. Effect of intravenous streptokinase on left ventricular function and early survival after acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 317: 850-855, 1987.
- 207-Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged postischemic ventricular dysfunction. *Circulation* 66: 1146-1149, 1982.
- 208-Lesnefsky ES, Dauber IM, Collier H, Horwitz LD. Deferoxamine, an iron chelator, reduces canine infarct size. *Circulation* 78(suppl II), II-372, 1988.
- 209-Nasland U, Haggmark S, Johansson G, Markland SL, Reiz S. Limitation of myocardial infarct size by superoxide dismutase as an adjunct to reperfusion after different duration of coronary occlusion in the pig. *Circ Res* 66: 1294-1301, 1990.
- 210-Hartzler GO, Rutherford BD, McConahay DR. Percutaneous transluminal coronary angioplasty with and without thrombolytic therapy for the treatment of acute myocardial infarction. *Am Heart J* 106: 965-973, 1983.
- 211-O'Neil W, Timmis GC, Bourdillon PD. A prospective randomized trial of intracoronary streptokinase versus coronary angioplasty for acute myocardial infarction: a 12 month follow-up report. *N Engl J Med* 314: 812-818, 1986.
- 212-Berne RM. The role of adenosine in the regulation of coronary blood flow. *Circ Res* 47: 807-813, 1980.
- 213-Roberts PA, Newby AC, Hallett MB, Campbell AK. Inhibition by adenosine of reactive oxygen metabolite production by human polymorphonuclear leucocytes. *Biochem J* 227: 669-674, 1985.
- 214-Schrier DJ, Imre KM. The effects of adenosine agonists on human neutrophil function. *The J of Immunol* 137: 3824-3829, 1986.
- 215-Skubitz KM, Wickham NW, Hammerschmidt DE. Endogenous and exogenous adenosine inhibit granulocyte aggregation without altering the associated rise in intracellular calcium concentration. *Blood* 72: 29-33, 1988.
- 216-Ely SW, Mentzer RM, Lasley RD, Lee BK, Berne RM. Functional and metabolic evidence of enhanced myocardial tolerance to ischemia and reperfusion with adenosine. *J Thor Cardiovasc Surg* 90: 549-556, 1985.

- 217-Cornstein BN, Levin RI, Belanoff J, Weissmann G, Hirschhorn A. Adenosine: an endogenous inhibitor of neutrophil mediated injury to endothelial cells. J Clin Invest 78: 760-770, 1986.
- 218-Olafsson B, Forman MB, Puett DW. Reduction of reperfusion injury in the canine preparation by intracoronary adenosine: importance of endothelium and the no-reflow phenomenon. Circulation 76: 1135-1145, 1987.
- 219-Babbit DG, Virmani R, Forman MB. Intracoronary adenosine administered after reperfusion limits vascular injury after prolonged ischemia in the canine model. Circulation 80: 1388-1399, 1989.
- 220-Pitarsy CJ, Virmani R, Vildibill HD, Jackson EK, Forman MB. Reduction of reperfusion injury by intravenous adenosine administered during the early reperfusion period. Circulation 83: 237-247, 1991.
- 221-Velasco CE, Turner M, Cobb MA, Virmani R, Forman MB. Myocardial reperfusion injury in the canine model after 40 min of ischemia: effect of intracoronary adenosine. Am Heart J 122: 1561-1570, 1991.
- 222-Heymann MA, Payne BD, Hoffman JIE. Blood flow measurements with radionuclide-labeled particles. Prog Cardiovasc Dis 20: 55-79, 1977.
- 223-Wenger TL, Lederman S, Starmer CF, Brown T, Strauss HC. A method for quantitating antifibrillatory effects of drugs after coronary reperfusion in dogs: improved outcome with bretylium. Circulation 69: 142-148, 1984.
- 224-Hatori N, Roberts RL, Tadokoro H, Ryden L, Drury JK, Corday E. Differences in infarct size with lidocaine as compared with bretylium tosylate in acute myocardial ischemia and reperfusion in pigs. J Cardiovasc Pharmacol 18: 581-588, 1991.
- 225-Nishimura M, Watanabe Y. Membrane action and catecholamine release action of bretylium tosylate in normoxic and hypoxic canine Purkinje fibers. J Am Coll Cardiol 2: 287-292, 1987.
- 226-Harken AJ, Simpson MB, Haselgrove J, Weistein L, Harden WR, Barlow AC. Early ischemia after complete coronary ligation in the rabbit, dog, pig and monkey. Am J Physiol 241 H 202-210, 1981.
- 227-Eckstein RW. Coronary interatrial anastomosis in young pigs and mongrel dogs. Circ Res 2: 460-465, 1954.
- 228-Ramsen JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD, Schork KA, Lucchesi BR. Reduction of the extension of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. Circulation 67: 1016-1023, 1983.

- 229-Schaub RG, Stewart G, Strong M, Ruotolo R, Lemole G. Reduction of ischemic myocardial damage in the dog by lidocaine infusion. Am J Pathol 87: 399-414, 1977.
- 230-Homeister JW, Hoff PT, Fletcher DD, Lucchesi BR. Combined adenosine and lidocaine administration limits myocardial reperfusion injury. Circulation 82: 595-608, 1990.
- 231-Moser GH, Schrader J, Deussen A. Turnover of adenosine in plasma of human and dog blood. Am J Physiol 256: C 799-806, 1989.
- 232-Schrader J, Berne RM, Rubio R. Uptake and metabolism of adenosine by human erythrocyte ghosts. Am J Physiol 223: C-159-166, 1972.
- 233-Abreu A, Mahmarian JJ, Nishimura S, Boyce TM, Verani M. Tolerance and safety of pharmacologic coronary vasodilation with adenosine in association with Thallium-201 scintigraphy in patients with suspected coronary artery disease. J Am Coll Cardiol 18: 730-735, 1991.
- 234-Crea F, Pupita G, Galassi AR. Role of adenosine in pathogenesis of anginal pain. Circulation 81: 164-172, 1990.
- 235-Verani MS, Mahmarian JJ, Hixon JB, Boyce TM, Staudacher RA. Diagnosis of coronary artery disease by controlled coronary vasodilation with adenosine and Thallium-201 scintigraphy in patients unable to exercise. Circulation 82: 80-87, 1990.
- 236-Nishimura S, Mahmarian SS, Boyce TM, Verani M. Quantitative Thallium-201 single photon emission computed tomography during maximal pharmacologic coronary vasodilation with adenosine for assessing coronary artery disease. J Am Coll Cardiol 18: 736-745, 1991.
- 237- Gupta NC, Esterbrooks D, Mahiuddin S. Adenosine in myocardial perfusion imaging using positron emission tomography. Am Heart J 122: 293-301, 1991.
- 238-Smith GT, Geary GG, Blanchard W, McNamara JJ. Reduction in infarct size by synchronized selective coronary venous retroperfusion of arterialized blood. Am J Cardiol 48: 1064-1070, 1981.
- 239-Geary GG, Smith GT, Suchiro GT, Zehan C, Siu B, McNamara J J. Quantitative assessment of infarct size reduction by coronary venous retroperfusion in baboons. Am J Cardiol 50: 1424-1430, 1982.
- 240-Haendchen RV, Corday E, Meerbaum S. Hypothermic synchronized retroperfusion of the coronary veins for the treatment of acutely ischemic myocardium. Comp Ther 8: 7-15, 1982.

- 241-Berdeaux A, Farcot J, Bourdarias J, Barry M, Bardet J, Giudicelli J. Effects of diastolic retroperfusion on regional coronary blood flow in experimental myocardial ischemia. Am J Cardiol 47: 1033-1040, 1981.
- 242-Meesmann M, Karaguenzian HS, Ino T. Selective perfusion of ischemic myocardium during coronary venous retroinjection: a study of the causative role of venoarterial and venoventricular pressure gradients. J Am Coll Cardiol 10: 887-897, 1987.
- 243-Bida GT, Satymurphy N, Barrio JR. The synthesis of 2-F-18 fluoro 2-deoxy-D-glucose using glycals: a reexamination. J Nucl Med 25: 1327-1334, 1984.
- 244-Ratib O, Bidaut L, Nienaber C, Krivokapich S, Schelbert HR, Phelps ME. Semiautomatic software for quantitative analysis of cardiac positron tomography studies. SPIE 914: 412-419, 1988.
- 245-Tillisch J, Brunken R, Marshall R, Schelbert HR. Reversibility of cardiac wall motion abnormalities predicted by positron tomography. N Engl J Med 314: 884-888, 1987.
- 246-Schwaiger M, Schelbert HR, Ellison D. Sustained regional abnormalities in cardiac metabolism after transient ischemia in the chronic dog model. J Am Coll Cardiol 6: 336-347, 1985.
- 247-Sochor H, Schwaiger M, Schelbert HR. Relationship between Thallium 201, Tc-99m (Sn) pyrophosphate and F-18-2-deoxyglucose uptake in ischemically injured dog myocardium. Am Heart J 114: 1066-1077, 1987.
- 248-Goldfinger D. Acute hemolytic transfusion reactions: a fresh look at pathogenesis and considerations regarding therapy. Transfusion 17: 2-8, 1977.
- 249-Serruys PW, Wiggins W, Vanden Brand M. Left ventricular performance, regional blood flow, wall motion, and lactate metabolism during transluminal angioplasty. Circulation 70: 25-36, 1984.
- 250-Hauser AM, Gangadharan V, Ramos RG, Gordon S, Timmis GC. Sequence of mechanical, electrocardiographic and clinical effects of repeat coronary artery occlusion in human beings: echocardiographic observations during coronary angioplasty. J Am Coll Cardiol 5: 193-197, 1985.
- 251-Wohlgeleinter D, Cleman M, Highman HA. Regional myocardial dysfunction during coronary angioplasty: evaluation by two-dimensional echocardiography and 12 lead electrocardiography. J Am Coll Cardiol 7: 1245-1254, 1987.
- 252-Cowley MJ, Dorros G, Van Raden M, Detre KM. Acute coronary events associated with percutaneous transluminal coronary angioplasty. Am J Cardiol 53: 12C-16C, 1984.

- 253-Detre K, Holubkor R, Kelsey S. Percutaneous transluminal coronary angioplasty in 1985-1986 and 1977-1981: the National Heart, Lung and Blood Registry. N Engl J Med 318: 265-270, 1988
- 254-Dorros G, Cowley MJ, Janke L, Kelsey SF, Mullins SM, Van Raden M. In hospital mortality rate in the National Heart, Lung and Blood Institute. Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty Registry. Am J Cardiol 53: 17C-21C, 1984.
- 255-Cleman M, Jaffe CC, Wohlgelemler D. Prevention of ischemia during percutaneous transluminal coronary angioplasty by transcatheter infusion of oxygenated Fluosol DA 20%. Circulation 74: 555-562, 1986.
- 256-Jaffe CC, Wohlgelemler D, Cabin HS. Preservation of left ventricular ejection fraction during percutaneous transluminal coronary angioplasty by distal transcatheter coronary perfusion of oxygenated Fluosol DA 20%. Am Heart J 115: 1156-1164, 1988.
- 257-Lehmann KG, Atwood JE, Synder EL, Ellison RL. Autologous blood perfusion for myocardial protection during coronary angioplasty: a feasibility study. Circulation 76: 312-323, 1987.
- 258-Stack RS, Quigley PJ, Collins G, Phillips HR. Perfusion ballon catheter. Am J Cardiol 61: 776-806, 1988.
- 259-Haendchen RV, Corday E. Temporary circulatory assist during high-risk coronary angioplasty. Which technique for which patients?. Arq Bras Cardiol 56: 341-348, 1991.
- 260-Alcan KE, Stertz SH, Wallsh JE, DePasqualle NP, Bruno MS. The role of intra-aortic ballon counterpulsation in patients undergoing percutaneous transluminal coronary angioplasty. Am Heart J 105: 527-530, 1983.
- 261-Vogel RA, Shawl F, Tommasco C. Initial report of the National Registry of elective cardiopulmonary bypass supported coronary angioplasty. J Am Coll Cardiol 15: 23-29, 1990.
- 262-Merhige ME, Smalling RW, Cassidy D. Effect of hemopump left ventricular assist device on regional myocardial perfusion and function: reduction of ischemia during coronary occlusion. Circulation 80 (suppl III) III158-168, 1989.
- 263-Ganz W, Tamurak K, Marcus HJ, Donoso R, Yashida S, Swan HJC. Measurement of coronary blood flow by continuous thermodilution in man. Circulation 44: 181-194, 1971.
- 264-Bing RT, Hammond MN, Handelsmann JC. Measurement of coronary blood flow, oxygen consumption and efficiency of the left ventricle in man. Am Heart J 38: 1-24, 1949.

- 265-Drury JK, Yamazaki S, Fishbein MC, Meerbaum S, Corday E. Synchronized diastolic coronary venous retroperfusion: results of a preclinical safety and efficacy data. J Am Coll Cardiol 6: 328-335, 1985.
- 266-Haendchen RV, Corday E. Coronary sinus interventions: state of the art and initial clinical experience with retroperfusion support during angioplasty. Arq Bras Cardiol 54: 293-305, 1990.
- 267-Barnett CR, Touchon CT. Use of coronary venous retroperfusion in acute myocardial ischemia. Cardiovasc Rev Rep 10: 64-66, 1990.
- 268-Costantini CR, Sampaolesi A, Serra CM, Pacheco G, Neuburger J, Conci E, Haendchen RV. Coronary venous retroperfusion support during high risk angioplasty in patients with unstable angina: Preliminary experience. J Am Coll Cardiol 18: 283-292, 1991.
- 269-Lotan C, Milgalter E, Gotsman M. Dissection of the left main coronary artery: a complication of PTCA to the anterior descending artery. Clin Cardiol 11: 120-121.
- 270-Vliestra RE. Management of acute occlusion after percutaneous transluminal coronary angioplasty. Eur Heart J 10 (suppl H): H101-103, 1989.
- 271-Gruentzig AR, Senning A, Siegenthaler WE. Nonoperative dilation of coronary artery stenosis: percutaneous transluminal coronary angioplasty. N Engl J Med 301: 61-68, 1979.
- 272-Vliestra RE, Holmes DR, Reeder GS. Ballon angioplasty in multivessel coronary artery disease. Mayo Clinic Proc 58: 563-567, 1983.
- 273-Dorros G, Stertz SH, Cowley MJ, Myler RK. Complex coronary angioplasty: multiple coronary dilatations. Am J Cardiol 53 (suppl C): 126C-130C, 1984.
- 274-Williams DO, Riley RS, Singh AK, Gerwitz H, Most AS. Evaluation of the role of coronary angioplasty in patients with unstable angina pectoris. Am Heart J 103: 1-9, 1981.
- 275-Faxon DP, Detra KM, McCabe CH. Role of percutaneous transluminal coronary angioplasty in the treatment of unstable angina: report of the National Heart, Lung and Blood Institute Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty and Coronary Artery Surgery Registries. Am J Cardiol 53 (suppl C): 131 C-135C, 1984.
- 276-Hartzler GO, Rutherford BD, McConahay DR, Johnson WL, Giorgi LV. High-risk percutaneous transluminal coronary angioplasty. Am J Cardiol 61(suppl G): 33G-37G, 1988.

- 277-Ryan TJ, Faxon DP, Gunnar RM. Guidelines for percutaneous transluminal coronary angioplasty: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on assessment of diagnostic and therapeutic cardiovascular procedures (subcommittee on percutaneous transluminal coronary angioplasty). J Am Coll Cardiol 12: 529-545, 1988.
- 278-Haendchen RV, Fishbein MC, Meerbaum S, Corday E. Sequential noninvasive assessment of left ventricular size, regional wall thickness and function during 3 hours of coronary occlusion and reperfusion: differential effects of reflow in dogs with small vs large areas at risk. Braz J Med Biol Res 22: 1195-1217, 1989.
- 279-Kar S, Drury JK, Hajduczki I, Eigler N, Wakida Y, Litvack F, Buchbinder N, Marcus H, Nordlander R, Corday E. Synchronized coronary venous retroperfusion for support and salvage of ischemic myocardium during elective and failed angioplasty. J Am Coll Cardiol 18: 271-282, 1991.
- 280-Berland J, Farcot JC, Barrier A, Dellac A, Gamra H, Letac B. Coronary venous synchronized retroperfusion during percutaneous transluminal angioplasty of left anterior descending coronary artery. Circulation 81 (suppl IV): IV35-42, 1990.
- 281-Sandler H, Dodge HT. The use of single plane angiocardiograms for the calculation of left ventricular volumes in man. Am Heart J, 75: 325-334, 1968.
- 282-Chatterjee K, Swan HJC, Parmley W, Sustaita H, Marcus H, Matloff J. Depression of left ventricular function due to acute myocardial ischemia and its reversal after aortocoronary saphenous vein bypass. N Engl J Med 286: 1117-1122, 1972.
- 283-Topol EJ. Emergencies strategies for failed percutaneous transluminal coronary angioplasty. Am J Cardiol 63: 249-250, 1989.
- 284-Babic U, Grujicic S, Djuricic Z, Vucinic M. Percutaneous left atrial-aortic bypass with a roller pump. Circulation 80(suppl II), II-272, 1989.
- 285-Berland J, Farcot JC, Cribier A, Lejevre E, Barrier A, Letac B. Evaluation of a new physiologic anteroperfusion synchronized system (PASS) during PTCA. Eur Heart J 10: 236, 1989.
- 286-Angelini P, Heibig J, Leachman DR. Distal hemoperfusion during percutaneous transluminal coronary angioplasty. Am J Cardiol 58: 252-255, 1986.
- 287-Hinohara T, Simpson JB, Phillips HR, Stack R. Transluminal catheter reperfusion: a new technique to reestablish blood flow after coronary occlusion during percutaneous transluminal coronary angioplasty. Am J Cardiol 57: 684-686, 1986.
- 288-Mohl W. Coronary sinus interventions: from concept to clinics. J Cardiac Surg 2: 467-493, 1987.