

LUIZ CREDIDIO NETTO

**A FUNÇÃO ENDOTELIAL DOS VASOS CORONÁRIOS DE
RESISTÊNCIA NA ISQUEMIA/REPERFUSÃO:
ESTUDO EXPERIMENTAL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de
Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de Campinas
para obtenção do Título de Mestre em Cirurgia

ORIENTADOR

PROF. DR. PAULO AFONSO RIBEIRO JORGE

Campinas

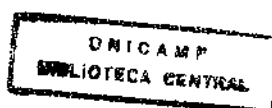
- 1996 -



1150030135



T/UNICAMP C88f



UNIDADE	F.C.M.
N.º CHAMADA	T/UNICAMP
C88f	
V.	Ex.
TUMBO BC/	30135/FCM/1472
PROC.	281/97
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	13/05/97
N.º CPD	

CM-00099439-1

BIBID: 115774

Credidio Netto, Luiz

A função endotelial dos vasos
coronarios de resistencia na i
squemia/reperfusão estudo expe
T/UNICAMP/C88f

(30135/97)

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

C88f
C861f

Credidio Netto, Luiz

A função endotelial dos vasos coronários de resistência na
isquemia/reperfusão : estudo experimental / Luiz Credidio Netto.
Campinas, SP : [s.n.], 1996.

Orientador : Paulo Afonso Ribeiro Jorge

Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Ciências Médicas.

1. Endotélio. 2. Acetilcolina. 3. Reperfusão. I. Paulo Afonso
Ribeiro Jorge. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Ciências Médicas. III. Título.

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador:

Prof. Dr. Paulo Afonso Ribeiro Jorge

Membros:

1. Domingos marcolino Brãile:

2. Luís Alberto Oliveira Wallan:

Curso de pós-graduação em Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas.

Data:

06/12/96

DEDICATÓRIA

A meus pais

Lindoro (I.M.) e Elisabeth

A meus filhos

Marcos Augusto

Alessandra

Fabiano Luís

A minha esposa

Marli

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Paulo Afonso Ribeiro Jorge, pela amizade e orientação segura na concretização deste ideal.

Ao Prof. Dr. Reinaldo Wilson Vieira, parceiro constante na realização dos atos operatórios de nossa especialidade.

Ao Prof. Dr. Domingo Marcolino Braile, pelo apoio fraternal no desenvolvimento técnico da Cirurgia Cardiovascular.

Ao Dr. José Augusto Baucia, que, sempre com companheirismo profissional, ajudou sobremaneira na composição gráfica deste trabalho.

Ao Dr. Valentin Baccarin, pelo incentivo constante.

À Prof^a. Dra. Cicilia Yuko Wada, pela análise estatística aqui apresentada.

À Srta. Ana Cristina de Moraes, ao Sr. William Adalberto Silva e ao Sr. Miguel Luís Cândido, pelo importante apoio técnico.

Aos Drs. Moise Dalva e Vânia Lúcia Modesto, pelo interesse acadêmico e auxílio inestimável.

Ao Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Universidade Estadual de Campinas, pelos recursos indispensáveis à realização deste trabalho.

À Sra. Maíse Borges Leite Saviani, do Serviço de Apoio Didático da Universidade Estadual de Campinas, pela revisão do texto.

À Srta. Marisa Monteiro Mantovani, Secretária do Curso de Pós-Graduação em Cirurgia, pelas importantes orientações.

SUMÁRIO

I. RESUMO	1
II. INTRODUÇÃO E DADOS DA LITERATURA	4
III. OBJETIVO	8
IV. MATERIAL E MÉTODOS	9

<u>Estudo da função endotelial</u>	<u>13</u>
<u>Protocolo do estudo</u>	<u>13</u>
<u>V. ANÁLISE ESTATÍSTICA</u>	<u>16</u>
<u>VI. RESULTADOS</u>	<u>27</u>
<u>VII. DISCUSSÃO</u>	<u>41</u>
<u>VIII. CONCLUSÃO</u>	<u>50</u>
<u>IX. ANEXOS</u>	<u>51</u>
<u>X. SUMMARY</u>	<u>64</u>
<u>XI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	<u>66</u>

FIGURA

FIGURA 1: Esquema do modelo experimental

12

TABELAS

TABELA 1. Resultados do teste estatístico para normalidade da variável “fluxo coronário” nas cinco situações C1, ACh1, HR, C2 e ACh2

17

TABELA 2. Resultados do teste t de Student, para dados pareados, das médias dos fluxos coronários

18

TABELA 3. Estatísticas sumárias das variáveis FC, PAo (S e D) e PVE (S e DF)

19

TABELA 4. Análise estatística para dados pareados (teste t de Student) entre as médias das variáveis FC, PS Ao, PDAo, PSVE e PDFVE, nas situações C1-ACh1, ACh1-HR, C2-ACh2 e C1-C2	26
---	----

TABELA 5. Valores das variáveis controles, no período de pré-oclusão coronária	28
--	----

TABELA 6. Valores das variáveis estudadas durante a infusão de acetilcolina, no período de pré-oclusão coronária	29
--	----

TABELA 7. Valores das variáveis estudadas durante a Hiperemia Reativa	30
---	----

TABELA 8. Valores das variáveis controles, no período de reperfusão miocárdica	31
--	----

TABELA 9. Valores das variáveis estudadas durante a infusão de acetilcolina, na reperfusão miocárdica	32
---	----

GRÁFICOS

GRÁFICO 1. “Box-plots” da frequência cardíaca nas cinco situações de fluxo coronário 20

GRÁFICO 2. “Box-plots” da pressão sistólica da aorta nas cinco situações de fluxo coronário 21

GRÁFICO 3. “Box-plots” da pressão diastólica da aorta nas cinco situações de fluxo coronário 22

GRÁFICO 4. “Box-plots” da pressão sistólica do ventrículo esquerdo nas cinco situações de fluxo coronário 23

GRÁFICO 5. “Box-plots” da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo nas cinco situações de fluxo coronário 24

GRÁFICO 6. Perfis das médias dos fluxos coronários nas cinco situações: C1, ACh1, HR, C2 e ACh2 33

GRÁFICO 7. Perfis das médias da frequência cardíaca nas cinco situações de fluxo coronário 35

GRÁFICO 8. Perfis das médias da pressão sistólica da aorta nas cinco situações de fluxo coronário 36

GRÁFICO 9. Perfis das médias da pressão diastólica da aorta nas cinco situações de fluxo coronário 37

GRÁFICO 10. Perfis das médias da pressão sistólica do ventrículo esquerdo nas cinco situações de fluxo coronário 38

GRÁFICO 11. Perfis das médias da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo nas cinco situações de fluxo coronário 39

**A FUNÇÃO ENDOTELIAL DOS VASOS CORONÁRIOS DE
RESISTÊNCIA NA ISQUEMIA/REPERFUSÃO:
ESTUDO EXPERIMENTAL**

I. RESUMO

O objetivo do presente trabalho é estudar o efeito da isquemia/reperfusão sobre a função endotelial dos vasos coronários de resistência.

Desenvolvemos a experiência com 12 cães mestiços, adultos, com peso médio de 17,7Kg. Após anestesia e abertura do tórax, fez-se a dissecação da artéria coronária descendente anterior (DA) e o coração foi preparado com duas agulhas, colocadas na raiz da aorta e no ventrículo esquerdo para medição das pressões, através de transdutores de pressão Stathan P23Db. O "probe" de um fluxômetro eletromagnético (Carolina Medical Electronics, Inc.) foi posicionado na artéria DA e, acima do mesmo, passou-se um fio de polipropileno envolvendo a DA, para oclusão e desocclusão do vaso. Abaixo do "probe" foi introduzida uma

agulha, conectada a uma bomba de infusão (B. Braun Melsungen AG), para administração de acetilcolina. Foram instaladas derivações para obtenção do eletrocardiograma. Todos os parâmetros foram registrados em polígrafo Siemens, modelo Mingograph 804. A oclusão do vaso teve a duração de 90 minutos, seguida de 20 minutos de reperfusão.

Registraram-se os fluxos coronários e os demais parâmetros (variáveis do estudo) em situações controles, durante a infusão de acetilcolina nos períodos pré-oclusão (**C1** e **ACh1**) e após 20 minutos de reperfusão (**C2** e **ACh2**). Estes dados foram também registrados durante a fase de hiperemia reativa (**HR**), que sucedeu a desocclusão da DA, após 90 minutos de oclusão. A acetilcolina foi administrada na dose de 15µg/Kg/min.

A coloração com cloreto de trifeniltetrazolio mostrou infarto do miocárdio em todos os corações estudados.

A comparação dos fluxos coronários controles e com acetilcolina no período de pré-oclusão coronária, mostrou elevação significativa do fluxo ($P<0,05$), de 155,5%. Para os valores de fluxo **C2** e **ACh2**, no período de reperfusão, não houve diferença estatisticamente significativa, a qual também não ocorreu entre as demais variáveis do estudo (frequência cardíaca, pressões sistólica e diastólica de aorta e pressões sistólica e diastólica final de ventrículo esquerdo), no momento de registro dos fluxos controles e com acetilcolina (**C1-ACh1** e **C2-**

ACh2). O fluxo obtido na hiperemia reativa (**HR**) foi significativamente maior do que aquele obtido durante a infusão de acetilcolina, no período de pré-oclusão (**ACh1**) ($P < 0,05$).

O autor conclui que a reperfusão que se seguiu ao infarto do miocárdio, reduziu o fluxo coronário durante a administração de acetilcolina e interpreta este resultado como decorrente da disfunção endotelial, que se instala nos vasos coronários de resistência, durante a restauração do fluxo sanguíneo ao músculo cardíaco.

II. INTRODUÇÃO E DADOS DA LITERATURA

A reperfusão miocárdica pode ser entendida como a restauração do fluxo sanguíneo local, após interrupção da corrente sanguínea coronária por trombose do vaso, oclusão progressiva por placa aterosclerótica ou parada cardíaca anóxica em cirurgia cardiovascular, situações nas quais se instalam variáveis graus de isquemia.

Conquanto tal reperfusão represente uma providência benéfica e reduza a mortalidade nos pacientes infartados (Grupo Italiano per lo Studio della Streptochinase nell'Infarto del Miocardio - GISSI, 1986; Colaborative Group for

Randomized Trial of Intravenous Streptokinase - ISIS II, 1988), provoca uma série de alterações anátomo-funcionais sobre os vasos coronários e as células do miocárdio (KLONER, GANNOTE, JENNINGS, 1974; JENNINGS et al., 1985; BRAUNWALD & KLONER, 1985). Por este motivo, o assunto demanda uma reavaliação contínua, no sentido de ampliar a compreensão dos mecanismos envolvidos na reperfusão e permitir iniciativas terapêuticas que amenizem os eventuais efeitos deletérios da mesma.

A importância de tais estudos deve-se à extensão das situações clínicas nas quais o fenômeno acontece. A reperfusão miocárdica após isquemia pode ocorrer, por exemplo, em trombólises espontâneas que sucedem a oclusão coronária (DAVIES et al., 1986). Da maior importância, pela grande aplicação na prática cardiológica diária, é a reperfusão miocárdica que sucede as síndromes isquêmicas, conseqüente à administração de agentes trombolíticos (GISSI, 1986; ISIS II, 1988). O mesmo significado têm as reperfusões que ocorrem após as angioplastias e as cirurgias cardiovasculares com parada cardíaca anóxica, procedimentos que representam um extenso arsenal terapêutico, empregado nas síndromes isquêmicas. (SERRUYS et al., 1989; PIANA et al., 1994).

Algumas questões permanecem ainda em aberto quando se analisa o assunto, como qual o significado fisiopatológico da chamada injúria de reperfusão e sua repercussão clínica, assim como, se é possível prevenir ou reduzir as lesões conseqüentes à reperfusão e ampliar os benefícios desta providência.

As consequências da reperfusão estão na dependência da intensidade e duração da isquemia que a precedeu e da extensão da área isquêmica reperfundida, em parte dependente da circulação colateral (JOHNSON et al., 1988).

Aparentemente, a restauração do fluxo sanguíneo a uma região do miocárdio previamente com isquemia, representa vantagem pela oferta de substrato metabólico e oxigênio ao músculo isquêmico ainda viável. Entretanto, podem-se apontar as seguintes desvantagens no evoluir da reperfusão (KLONER et al., 1974):

- 1- maior velocidade de necrose das células consideradas inviáveis.
- 2- hemorragia focal.
- 3- o miocárdio "stunned".
- 4- o fenômeno da não-reperfusão.

Estudos experimentais têm demonstrado progressivo aumento da resistência circulatória no vaso reperfundido, conseqüente a alterações anátomo-funcionais em nível das miocélulas e capilares sangüíneos (COBB et al., 1976). Estas alterações têm sido vinculadas à liberação de radicais livres e são numerosas as publicações que discutem a influência dos inibidores de tais radicais sobre a injúria de reperfusão (COBB et al., 1976; PRZYKLENK & KLONER, 1989; NEJIMA et al., 1989).

Com a evidência cada vez maior do papel desempenhado pelo endotélio vascular na regulação da vasomotricidade e nos fenômenos de coagulação

(FURCHGOTT, 1983; PALMER, FERRIDGE, MONCADA, 1987), a atenção dos pesquisadores tem-se voltado para a verificação, também, da influência da reperfusão miocárdica sobre o endotélio dos vasos coronários. A disfunção endotelial, ocorrendo na reperfusão miocárdica, representaria um defeito adicional à chamada injúria de reperfusão e o conhecimento dos mecanismos envolvidos na sua gênese permitiria novas propostas terapêuticas. Nestas, a reversão da disfunção endotelial acrescentar-se-ia como outra iniciativa, entre as demais providências que se propõem a preservar o tecido miocárdico viável e a reduzir a dimensão do infarto.

III. OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho é estudar o fluxo coronário dependente do endotélio nos vasos de resistência, após isquemia conseqüente à oclusão de 90 minutos da artéria coronária descendente anterior, seguida de reperfusão sangüínea por 20 minutos.

IV. MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados 12 cães mestiços, adultos, de ambos os sexos, com pesos corpóreos entre 12,0 Kg e 25,0 Kg (média de 17,7 Kg), tomando-se os cuidados recomendados pelas organizações internacionais para experimentação animal (**NHY Publication, 85:23**, 1985, Revision).

Para anestesia, em todos os animais, procedeu-se à administração intravenosa de Inoval na dosagem de 2ml/Kg de peso, para indução, e Thiopental sódico na dosagem de 25mg/Kg de peso, para manutenção anestésica. Todos receberam intubação endotraqueal e foram ventilados com ar atmosférico,

com pressão positiva intermitente, através de respirador da marca Harvard (Harvard Apparatus-Dual Fase Control Respirator Pump), modelo 613. Eletrodos foram aplicados nos quatro membros, para obtenção de registro eletrocardiográfico.

Após antissepsia com álcool iodado e colocação de campos cirúrgicos estéreis, realizou-se toracotomia lateral no quarto espaço intercostal esquerdo, com auxílio de eletrocauterização por aparelho da marca WEM, modelo BC-30, efetuando-se hemostasia cuidadosa. As costelas foram separadas por afastador de Finochietto médio, ficando o pericárdio exposto.

Concomitante à toracotomia, dissecou-se a veia femoral esquerda, com introdução de catéter venoso para controle da pressão venosa central. Durante todo o procedimento, os animais receberam hidratação intravenosa com solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%.

O pericárdio foi aberto longitudinalmente, com exposição ampla do coração e vasos da base. O apêndice atrial esquerdo foi afastado e a artéria descendente anterior, após dissecação, ficou exposta desde a sua origem, onde foi envolvida com fio de polipropileno nº.5-0, para posterior oclusão. A coronária em questão, em sua porção proximal, foi puncionada com agulha do tipo Butterfly nº. 25, para infusão de acetilcolina, através de bomba de infusão da marca B. Braun Melsungen AG; acima desta punção foi aplicado um "probe", conectado a um fluxômetro eletromagnético da marca Carolina Medical Electronics, Inc., modelo SM-50-1D.

Finalizando-se o preparo do coração, puncionou-se o ventrículo esquerdo e a aorta ascendente com agulhas de nº. 25 x 7, para obtenção das pressões aórticas (sistólica e diastólica) e as do ventrículo esquerdo (sistólica e diastólica final), por intermédio de transdutor da marca Stathan P23Db. O esquema do preparo instrumental do coração está expresso na **Figura 1**.

Todos os eventos gráficos foram registrados em polígrafo da marca Siemens, modelo Mingograph 804.

Os valores numéricos dos registros fluxométricos da artéria descendente anterior foram obtidos através das medidas das massas de papel-vegetal, em miligramas (mg), correspondentes às áreas delimitadas pelas curvas gráficas de fluxo. A pesagem foi realizada em balança da marca Sauter, modelo PYP-414. As pressões de aorta e ventrículo esquerdo foram expressas em milímetros de mercúrio (mmHg) e a frequência cardíaca em batimentos por minuto (bat/min).

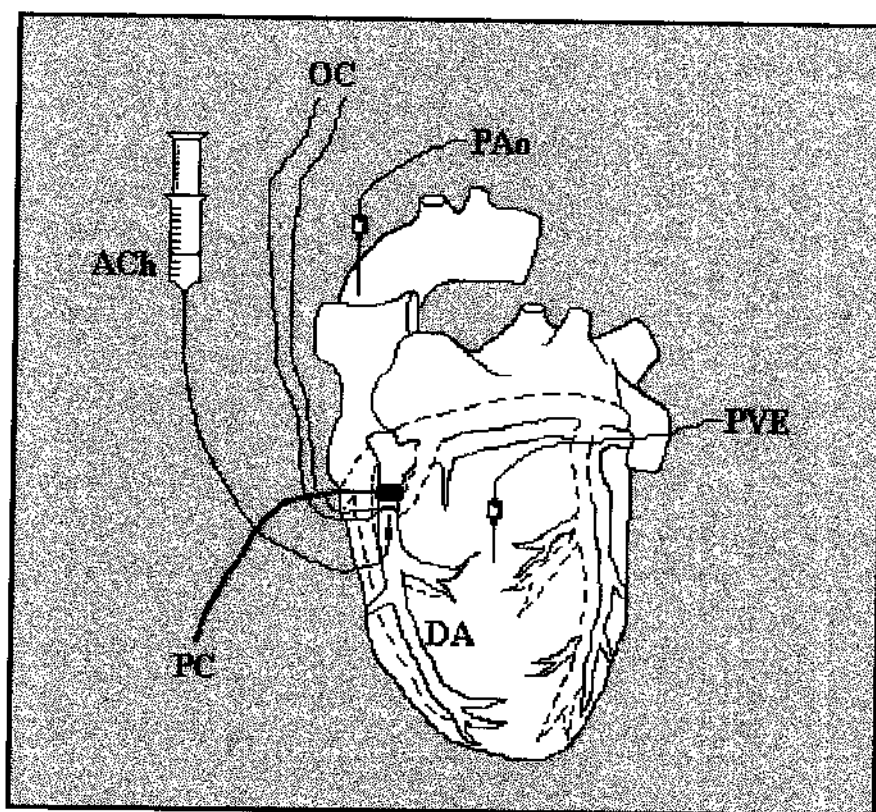


Figura 1. Esquema do modelo experimental

OC = fio de polipropileno para oclusão coronária

ACh = agulha intracoronária para administração de acetilcolina

PAo = agulha em aorta ascendente para tomada de pressões

PVE = agulha no ventrículo esquerdo para tomada de pressões

DA = artéria coronária descendente anterior

PC = "probe" para fluxometria coronária

Estudo da função endotelial

A função endotelial foi avaliada através da variação do fluxo coronário durante a administração de acetilcolina (cloreto de acetilcolina), na dose de 15µg/Kg/min, por três minutos, estabelecida em projeto piloto. Todos os parâmetros hemodinâmicos foram registrados no último minuto de infusão. A preservação funcional da musculatura lisa do vaso foi avaliada pela medida do fluxo coronário, durante a hiperemia reativa, que ocorreu imediatamente após a desocclusão do vaso.

Protocolo do estudo

Após o preparo do coração e estabilização circulatória, foram registrados todos os parâmetros hemodinâmicos no período de pré-oclusão coronária, assinalado como controle - C1. A seguir, foi administrada acetilcolina intracoronária e novamente registraram-se os dados fisiológicos no terceiro minuto de infusão da droga, denominados acetilcolina - ACh1. Em seguida, procedeu-se à oclusão progressiva da artéria coronária descendente anterior até fechamento total, assim permanecendo por 90 minutos. Durante este período, fez-se a aplicação de

1 ou 2 ml de xilocaína a 2%, intravenosa, para evitar ou controlar eventuais arritmias. Na sequência, a coronária foi desocluída lentamente, até liberação total do vaso. Neste momento, todos os parâmetros fisiológicos foram registrados e denominados de hiperemia reativa - **HR**.

Aos 20 minutos de reperfusão, os registros foram novamente realizados, em condições de estabilidade hemodinâmica, o que se denominou controle - **C2**; logo após esta última anotação, infundiu-se acetilcolina na luz coronária, efetuando-se os mesmos registros, denominados acetilcolina - **ACh2**. Ao final do experimento, obtiveram-se os seguintes dados:

1- Fluxos coronários controles-**C1** e durante a infusão de acetilcolina-**ACh1**, no período de pré-oclusão coronária.

2- Fluxo coronário após desoclusão total da coronária, portanto no início da reperfusão, denominado hiperemia reativa - **HR**.

3- Fluxos coronários controle - **C2** e durante a infusão de acetilcolina-**ACh2**, aos 20 minutos de reperfusão.

4- Para cada registro de fluxo, foram anotados, concomitantemente, o eletrocardiograma, as pressões sistólica e diastólica de aorta e as pressões sistólica e diastólica final de ventrículo esquerdo. Os traçados dos diferentes parâmetros estudados encontram-se em **ANEXOS**.

Completado o estudo funcional, os corações foram retirados, fatiados e submersos em solução de cloreto de trifeniltetrazolio a 2%, por 30 minutos, para se observar a ocorrência de infarto do miocárdio (FISHBEIN, RIT, LANDO, 1981).

V. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os fluxos coronários foram expressos em miligramas, traduzindo a massa da área da curva correspondente ao fluxo registrado, as pressões de aorta (sistólica e diastólica) e de ventrículo esquerdo (sistólica e diastólica final) em mmHg e a frequência cardíaca em bat/min.

Satisfeitos os pressupostos de normalidade através do teste de Kolmogorov-Smirnov (**Tabela 1**), foi empregado o teste t de Student (BEIGUELMAN, 1991) para dados pareados, no sentido de comparar as médias

dos fluxos coronários entre as diferentes situações do estudo (**Tabela 2**). $P < 0,05$ foi considerado como indicativo de diferença estatística entre os grupos.

Tabela 1. Resultados do teste estatístico para normalidade da variável fluxo coronário nas situações C1, ACh1, HR, C2 e ACh2.

Fluxo	Estatística	P (nível descritivo)
C1	0,8671	0,0569
ACh1	0,8699	0,0618
HR	0,9542	0,6485
C2	0,9674	0,8281
ACh2	0,9544	0,6511

C1 = fluxo coronário controle no período de pré-oclusão coronária

ACh1 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de pré-oclusão coronária

HR = fluxo coronário durante a hiperemia reativa (logo após a desocclusão coronária)

C2 = fluxo coronário controle no período de reperfusão coronária

ACh2 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de reperfusão coronária

Tabela 2. Resultados do teste t, para dados pareados, das médias dos fluxos coronários

Fluxo	Estatística	P (nível descritivo)
C1-ACh1	5,2110	0,0003 (*)
C1-HR	7,9046	0,0001 (*)
C1-C2	3,4379	0,0055 (*)
ACh1-HR	1,2458	0,2387
HR-C2	7,1936	0,0001 (*)
C2-ACh2	0,6354	0,5381

(*) = Estatisticamente significativa ($P < 0,05$)

C1 = fluxo coronário controle no período de pré-oclusão coronária

ACh1 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de pré-oclusão coronária

HR = fluxo coronário durante a hiperemia reativa (logo após a desocclusão coronária)

C2 = fluxo coronário controle no período de reperfusão coronária

ACh2 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de reperfusão coronária

Para se analisar o comportamento das variáveis FC, PAo (S e D) e PVE (S e DF) em cada situação de fluxo coronário, realizou-se análise descritiva (estatísticas sumárias) dos valores das mesmas (**Tabela 3 e Gráficos de 1 a 5** -“box plots”).

Tabela 3. Estatísticas sumárias das variáveis FC, PAo (S e D) e PVE (S e DF)

Variável	Situação	N	Média	Desv.Pad.	Mín.	Máx.	Q1	Q2	Q3
FC	C1	12	150,25	16,74	130	180	150	163,5	180
	ACh1	12	148,91	18,52	125	175	150	166	175
	HR	12	134,33	18,94	115	170	127,5	148	170
	C2	12	128,00	17,46	100	160	112,5	137	160
	ACh2	12	130,25	13,86	110	150	131	140	180
PSAo	C1	12	122	17,43	88	148	120	136	145
	ACh1	12	122,91	14,03	102	140	128,5	134	140
	HR	12	101,66	13,04	80	124	100	112	124
	C2	12	92,83	17,83	52	116	92	108	116
	ACh2	12	92,33	17,51	52	116	92	106	116
PDAo	C1	12	92,16	17,65	60	120	92	106	120
	ACh1	12	95,50	14,57	72	116	80	100	106
	HR	12	74,66	14,80	56	100	58	78	86
	C2	12	68,33	16,10	32	88	58	67	80
	ACh2	12	67,83	15,96	32	88	58	71	78
PSVE	C1	12	121,00	20,61	88	148	102	122	136
	ACh1	12	121,16	18,45	90	148	108	124	136
	HR	12	103,50	16,09	80	136	92	100	118
	C2	12	96,66	20,24	60	132	82	94	114
	ACh2	12	96,66	20,87	56	132	84	92	116
PDFVE	C1	12	5,33	3,84	0	12	2	6	8
	ACh1	12	5,33	3,93	0	12	2	6	8
	HR	12	8,16	5,14	0	20	4	8	11
	C2	12	7,66	6,42	0	24	4	6	11
	ACh2	12	7,16	5,93	0	20	4	4	10

FC = frequência cardíaca (bat/min)

PSAo = pressão sistólica da aorta (mmHg)

PDAo = pressão diastólica da aorta (mmHg)

PSVE = pressão sistólica do ventrículo esquerdo (mmHg)

PDFVE = pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (mmHg)

Q1 = quartil primeiro; **Q2** = mediana; **Q3** = quartil terceiro

C1 = fluxo coronário controle no período de pré-oclusão coronária

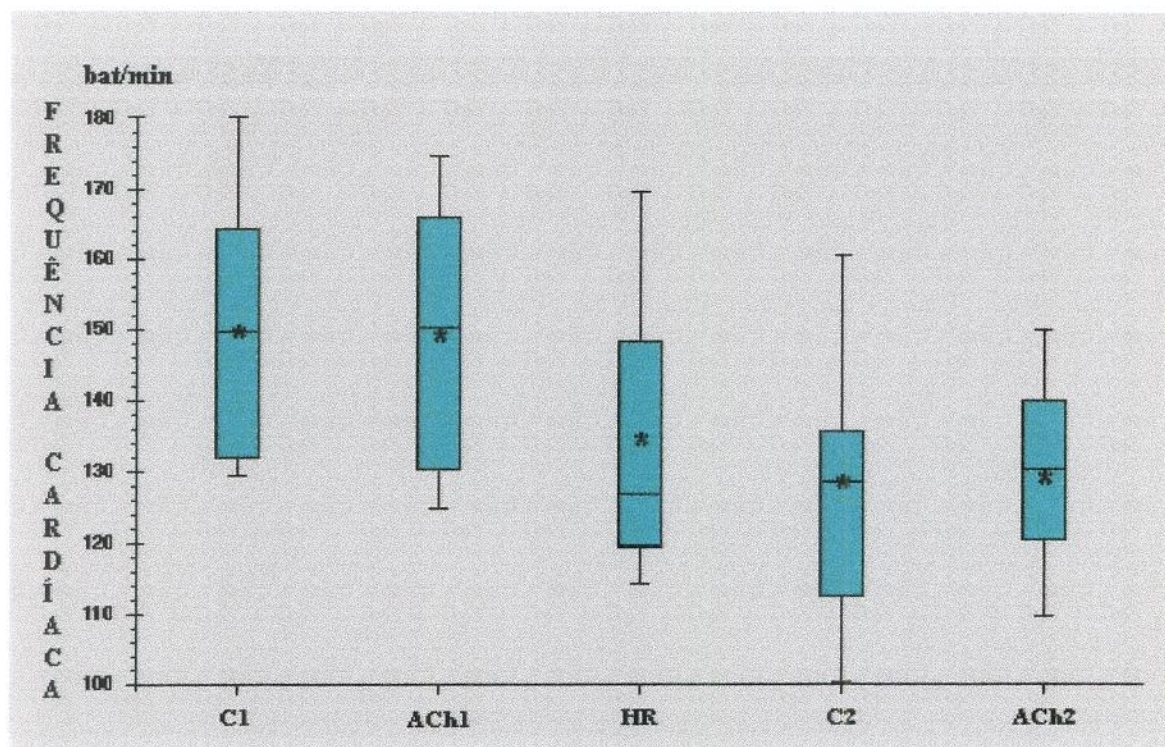
ACh1 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de pré-oclusão coronária

HR = fluxo coronário durante a hiperemia reativa (logo após a desoclusão coronária)

C2 = fluxo coronário controle no período de reperfusão coronária

ACh2 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de reperfusão coronária

Gráfico 1. “Box plots” da frequência cardíaca nas cinco situações de fluxo coronário



C1 = fluxo coronário controle no período de pré-oclusão coronária

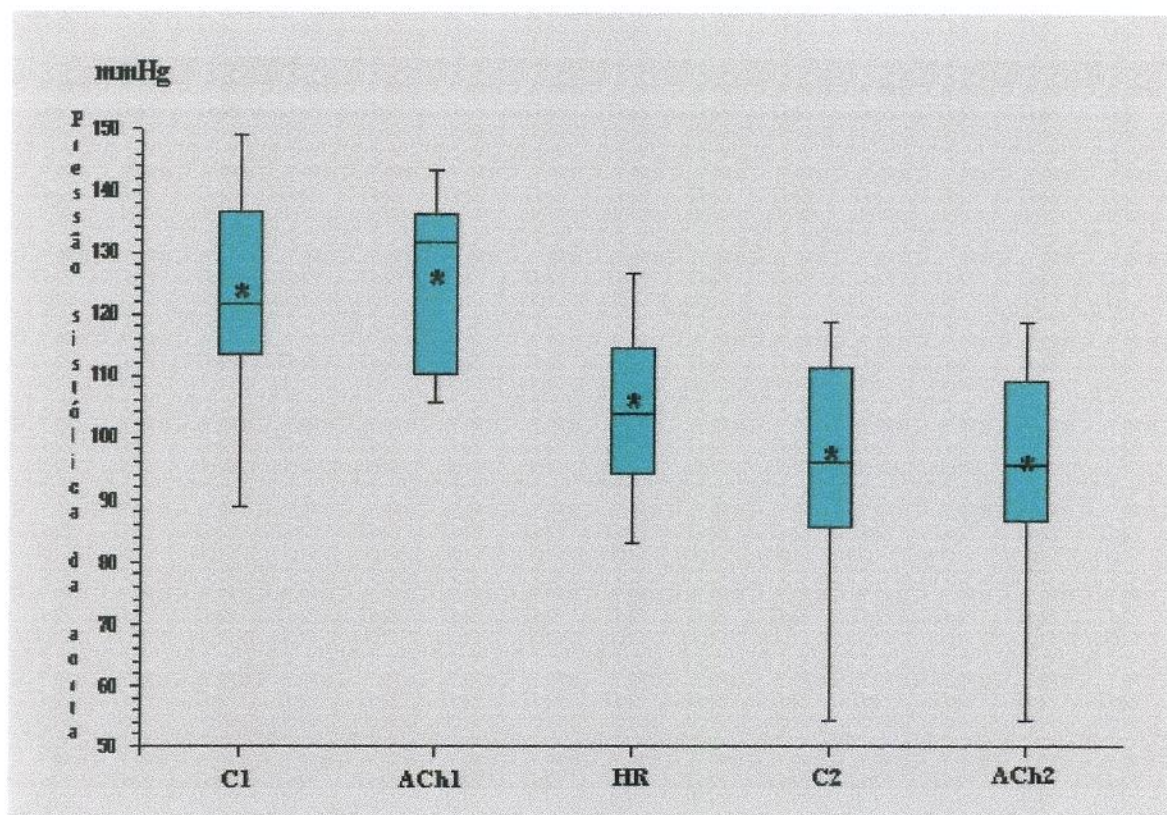
ACh1 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de pré-oclusão coronária

HR = fluxo coronário durante a hiperemia reativa (logo após a desocclusão coronária)

C2 = fluxo coronário controle no período de reperfusão coronária

ACh2 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de reperfusão coronária

Gráfico 2. “Box plots” da pressão sistólica da aorta nas cinco situações de fluxo coronário



C1 = fluxo coronário controle no período de pré-oclusão coronária

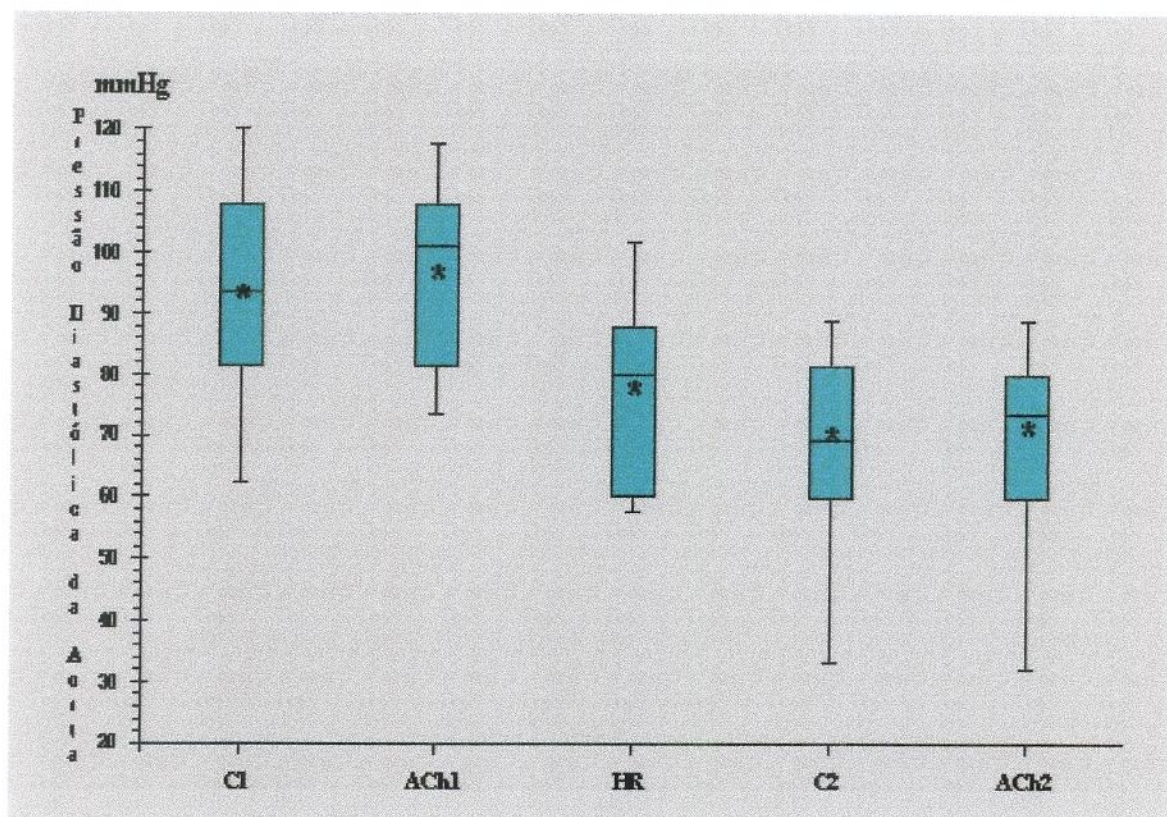
ACh1 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de pré-oclusão coronária

HR = fluxo coronário durante a hiperemia reativa (logo após a desoclusão coronária)

C2 = fluxo coronário controle no período de reperfusão coronária

ACh2 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de reperfusão coronária

Gráfico 3. “Box plots” da pressão diastólica da aorta nas cinco situações de fluxo coronário



C1 = fluxo coronário controle no período de pré-oclusão coronária

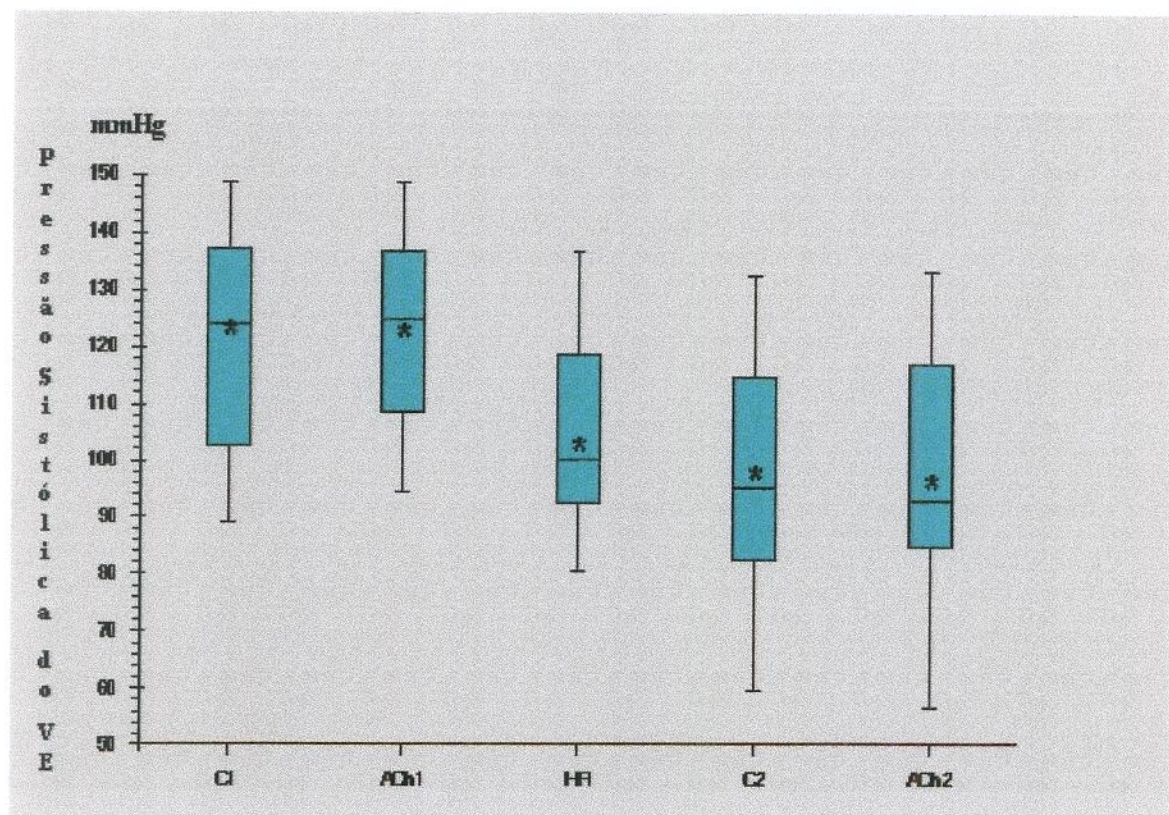
ACh1 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de pré-oclusão coronária

HR = fluxo coronário durante a hiperemia reativa (logo após a desoclusão coronária)

C2 = fluxo coronário controle no período de reperfusão coronária

ACh2 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de reperfusão coronária

Gráfico 4. “Box plots” da pressão sistólica do ventrículo esquerdo nas cinco situações de fluxo coronário



C1 = fluxo coronário controle no período de pré-oclusão coronária

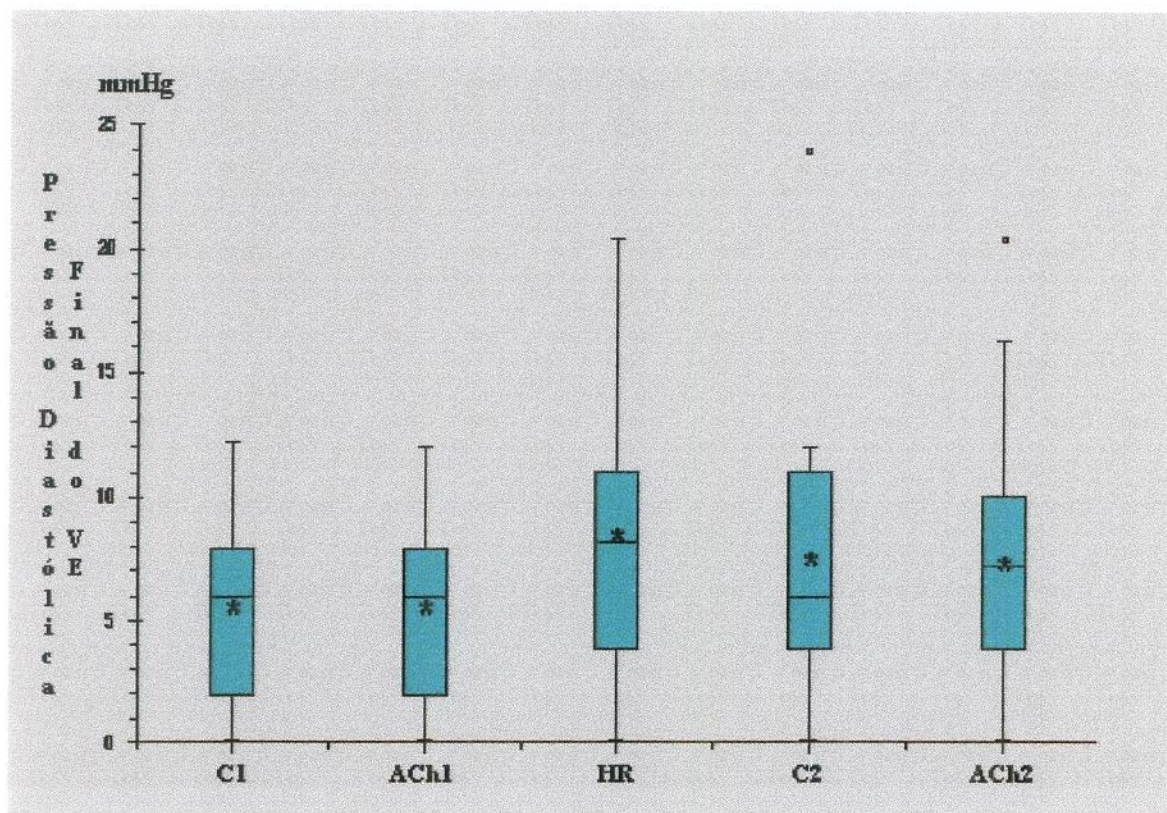
ACh1 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de pré-oclusão coronária

HR = fluxo coronário durante a hiperemia reativa (logo após a desoclusão coronária)

C2 = fluxo coronário controle no período de reperfusão coronária

ACh2 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de reperfusão coronária

Gráfico 5. “Box plots” da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo nas cinco situações de fluxo coronário



C1 = fluxo coronário controle no período de pré-oclusão coronária

ACh1 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de pré-oclusão coronária

HR = fluxo coronário durante a hiperemia reativa (logo após a desoclusão coronária)

C2 = fluxo coronário controle no período de reperfusão coronária

ACh2 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de reperfusão coronária

Para a comparação das médias de cada variável **FC**, **PSAo**, **PDAo**, **PSVE** e **PDFVE**, entre as situações pareadas **C1-ACh1**, **ACh1-HR**, **C2-ACh2** e **C1-C2**, foi realizado o teste t de Student (BEIGUELMAN, 1991) para dados pareados (**Tabela 4**). $P < 0,05$ foi considerado como indicativo de diferença entre os grupos.

Tabela 4. Análise estatística para dados pareados (teste t de Student) entre as médias das variáveis FC, PSAo, PDAo, PSVE e PDFVE, nas situações C1-ACh1, ACh1-HR, C2-ACh2 e C1-C2

Variável	Comparação	Estatística	P (nível descritivo)
FC	C1-ACh1	-0,5434	0,5977
	ACh1-HR	3,9548	0,0023(*)
	C2-ACh2	0,8101	0,4351
	C1-C2	6,0316	0,0001(*)
PSAo	C1-ACh1	0,3017	0,7685
	ACh1-HR	4,9730	0,0004(*)
	C2-ACh2	-0,5833	0,5715
	C1-C2	5,6971	0,0001(*)
PDAo	C1-ACh1	1,0563	0,3135
	ACh1-HR	4,9067	0,0005(*)
	C2-ACh2	-0,312	0,7609
	C1-C2	5,2871	0,0003(*)
PSVE	C1-ACh1	0,1497	0,8837
	ACh1-HR	6,4127	0,0001(*)
	C2-ACh2	0,0	1,000
	C1-C2	5,0062	0,0004(*)
PDFVE	C1-ACh1	0,0	1,000
	ACh1-HR	-1,4118	0,1857
	C2-ACh2	0,8207	0,4293
	C1-C2	-0,9632	0,3562

(*) = Estatisticamente significativa ($P < 0,05$)

FC = frequência cardíaca

PSAo = pressão sistólica da aorta

PDAo = pressão diastólica da aorta

PSVE = pressão sistólica do ventrículo esquerdo

PDFVE = pressão diastólica final do ventrículo esquerdo

C1 = fluxo coronário controle no período de pré-oclusão coronária

ACh1 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de pré-oclusão coronária

HR = fluxo coronário durante a hiperemia reativa

C2 = fluxo coronário controle no período de reperfusão coronária

ACh2 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de reperfusão coronária

VI. RESULTADOS

Os valores de todas as variáveis estudadas estão expressos nas **Tabelas de 5 a 9**. O **Gráfico 6** mostra o perfil das médias dos fluxos coronários.

TABELA 5. Valores da FC, PSAo, PDAo, PSVE e PDFVE no período de pré-oclusão coronária

CÃO	FC	PSAo	PDAo	PSVE	PDFVE	C1
1	167	112	88	136	2	3,6
2	150	140	108	132	12	3,0
3	130	120	80	112	8	2,9
4	180	120	92	112	8	3,5
5	150	100	72	100	4	1,6
6	130	88	60	88	2	4,3
7	150	120	92	100	0	2,4
8	130	148	120	148	8	4,5
9	136	132	100	136	8	7,2
10	150	136	104	136	8	3,8
11	170	136	112	148	0	3,5
12	160	112	78	104	4	3,0
MÉDIA	150,25	122	92,16	121	5,33	3,61
DESVIO PADRÃO	16,74	17,43	17,65	20,61	3,84	1,38

FC = frequência cardíaca (bat/min)

PSAo = pressão sistólica da aorta (mmHg)

PDAo = pressão diastólica da aorta (mmHg)

PSVE = pressão sistólica do ventrículo esquerdo (mmHg)

PDFVE = pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (mmHg)

C1 = fluxo coronário controle no período de pré-oclusão coronária (massa da área correspondente em mg)

TABELA 6. Valores da FC, PSAo, PDAo, PSVE e PDFVE durante a administração de acetilcolina, na pré-oclusão coronária

CÃO	FC	PSAo	PDAo	PSVE	PDFVE	ACH1
1	167	125	100	140	8	6,7
2	150	132	100	120	8	7,2
3	130	120	80	112	12	6,1
4	175	140	116	136	8	6,2
5	160	104	80	112	4	2,2
6	125	104	80	104	8	16,3
7	125	112	90	96	0	8,3
8	130	136	108	136	8	15,1
9	140	132	104	128	4	18,2
10	150	136	104	132	0	10,1
11	170	132	112	148	0	6,7
12	165	102	72	90	4	7,1
MÉDIA	148,91	122,91	95,5	121,16	5,33	9,2
DESVIO PADRÃO	18,52	14,03	14,57	18,45	3,93	4,82

FC = frequência cardíaca (bat/min)

PSAo = pressão sistólica da aorta (mmHg)

PDAo = pressão diastólica da aorta (mmHg)

PSVE = pressão sistólica do ventrículo esquerdo (mmHg)

PDFVE = pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (mmHg)

ACH1 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de pré-oclusão coronária (massa da área correspondente em mg)

TABELA 7. Valores da FC, PSAo, PDAo, PSVE e PDFVE durante a hiperemia reativa

CÃO	FC	PSAo	PDAo	PSVE	PDFVE	HR
1	136	100	80	136	8	9,1
2	125	100	72	100	8	10,8
3	120	92	60	92	4	8,0
4	170	124	100	120	4	8,8
5	130	88	56	96	10	4,7
6	115	80	56	80	12	11,7
7	120	112	88	92	0	10,5
8	136	112	80	116	8	15,9
9	125	88	56	100	8	12,0
10	115	100	76	100	4	17,2
11	160	112	88	120	20	9,7
12	160	112	84	90	12	7,2
MÉDIA	134,33	101,66	74,66	103,50	8,16	10,46
DESVIO PADRÃO	18,94	13,04	14,80	16,09	5,14	3,49

FC = frequência cardíaca (bat/min)

PSAo = pressão sistólica da aorta (mmHg)

PDAo = pressão diastólica da aorta (mmHg)

PSVE = pressão sistólica do ventrículo esquerdo (mmHg)

PDFVE = pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (mmHg)

HR = fluxo coronário durante a hiperemia reativa (massa da área correspondente em mg)

TABELA 8. Valores da FC, PSAo, PDAo, PSVE e PDFVE no período de reperfusão coronária

CÃO	FC	PSAo	PDAo	PSVE	PDFVE	C2
1	138	100	80	132	2	4,0
2	100	80	60	80	4	3,5
3	110	84	56	84	8	3,3
4	160	116	88	116	4	3,6
5	125	52	32	60	4	1,7
6	110	80	58	80	12	6,3
7	136	108	80	88	0	5,7
8	132	112	80	116	10	4,9
9	125	92	64	100	8	7,6
10	115	92	68	104	4	6,0
11	150	108	88	112	24	6,5
12	135	90	66	88	12	4,0
MÉDIA	128,0	92,83	68,33	96,66	7,66	4,75
DESVIO PADRÃO	17,46	17,83	16,10	20,24	6,42	1,69

FC = frequência cardíaca (bat/min)

PSAo = pressão sistólica da aorta (mmHg)

PDAo = pressão diastólica da aorta (mmHg)

PSVE = pressão sistólica do ventrículo esquerdo (mmHg)

PDFVE = pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (mmHg)

C2 = fluxo coronário controle durante a reperfusão coronária (massa da área correspondente em mg)

TABELA 9. Valores da FC, PSAo, PDAo, PSVE e PDFVE no período de reperfusão coronária

CÃO	FC	PSAo	PDAo	PSVE	PDFVE	ACh2
1	140	100	80	132	2	3,7
2	130	80	60	80	4	3,2
3	110	84	56	84	4	4,5
4	150	116	88	116	4	3,5
5	125	52	32	56	4	1,7
6	115	84	60	88	10	6,2
7	136	104	76	84	0	5,4
8	132	112	76	116	10	4,5
9	125	84	56	92	8	6,9
10	110	92	70	104	4	9,5
11	150	108	88	116	20	6,7
12	140	92	72	92	16	3,8
MÉDIA	130,25	92,33	67,83	96,66	7,16	4,96
DESVIO PADRÃO	13,86	17,51	15,96	20,87	5,93	2,09

FC = frequência cardíaca (bat/min)

PSAo = pressão sistólica da aorta (mmHg)

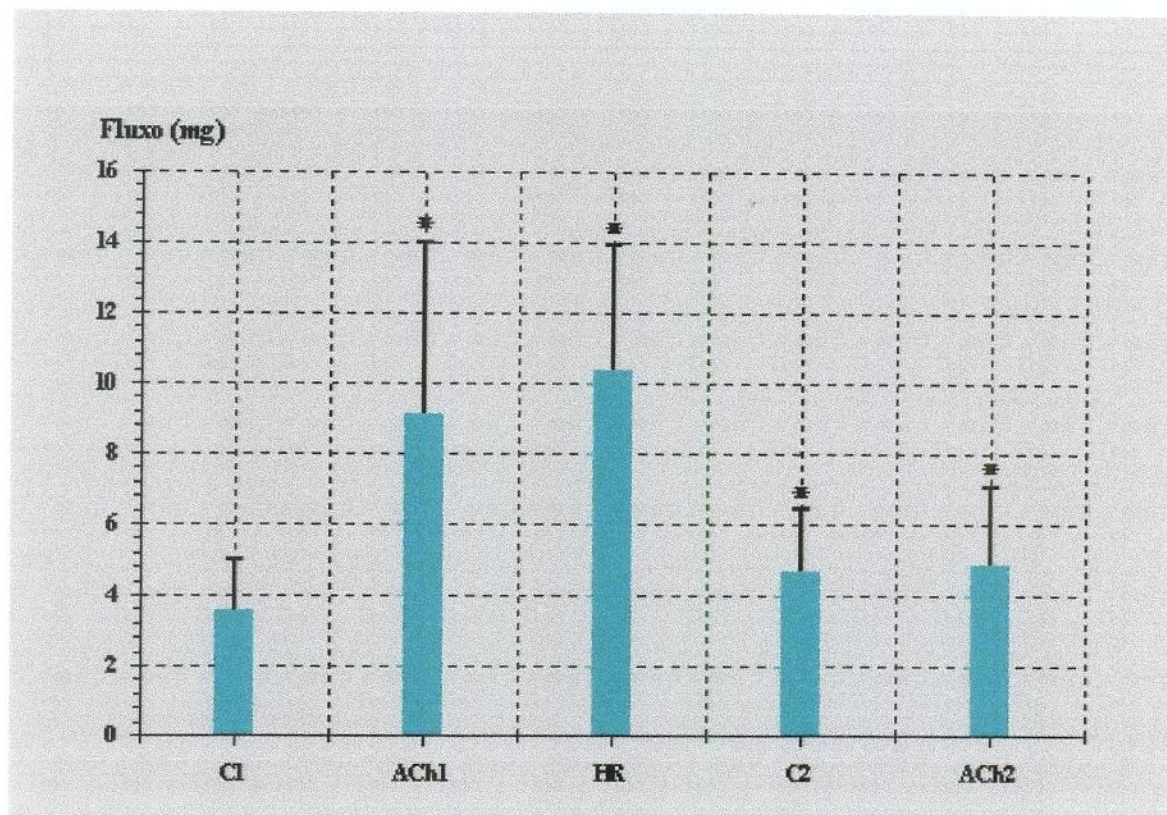
PDAo = pressão diastólica da aorta (mmHg)

PSVE = pressão sistólica do ventrículo esquerdo (mmHg)

PDFVE = pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (mmHg)

ACh2 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de reperfusão coronária (massa da área correspondente em mg)

Gráfico 6. Perfis das médias dos fluxos coronários nas cinco situações: C1, ACh1, HR, C2 e ACh2



(* = ESTATISTICAMENTE DIFERENTES DO CONTROLE - C1)

C1 = fluxo coronário controle no período de pré-oclusão coronária

ACh1 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de pré-oclusão coronária

HR = fluxo coronário durante a hiperemia reativa (logo após a desoclusão coronária)

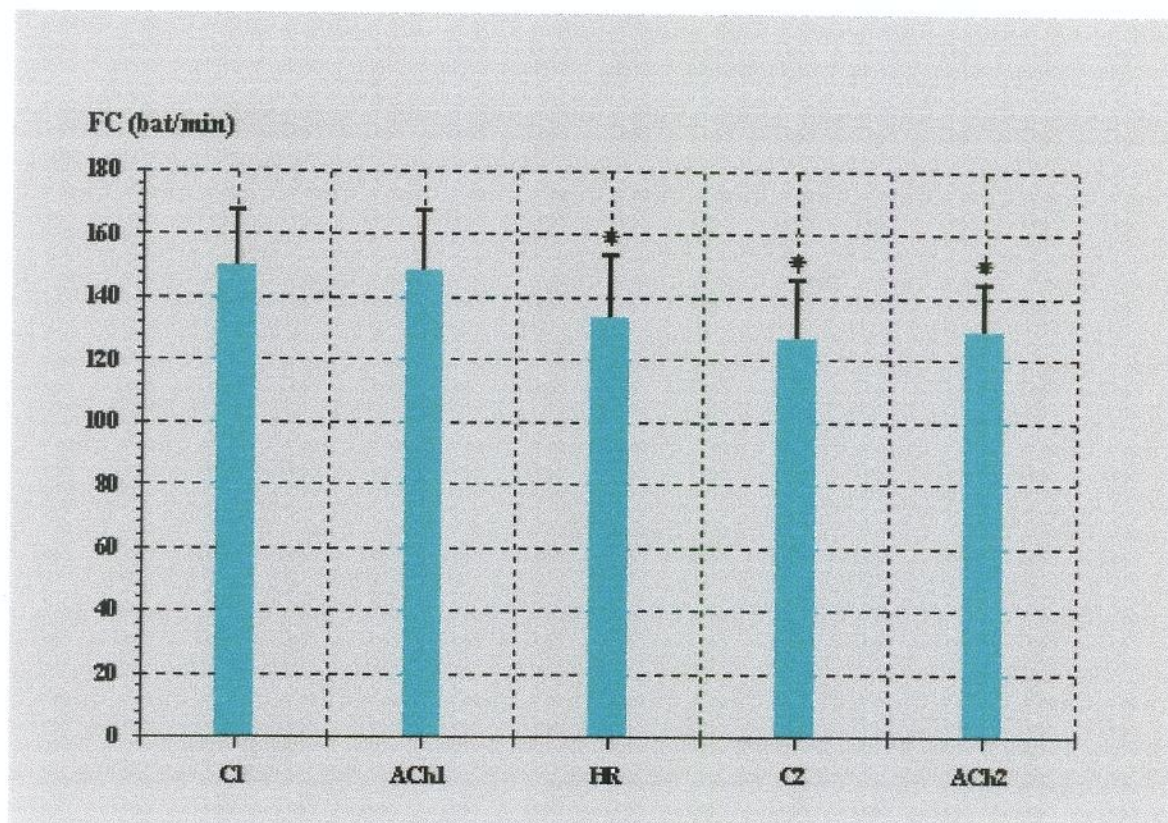
C2 = fluxo coronário controle no período de reperfusão coronária

ACh2 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de reperfusão coronária

A análise do **Gráfico 6** permite verificar que, no período de pré-oclusão, os valores das médias dos fluxos coronários controles-**C1** foram significativamente diferentes ($p < 0,05$) daqueles obtidos durante a infusão de acetilcolina-**ACh1**, levando a um aumento do fluxo em 155,5%. No período de reperfusão, os valores das médias dos fluxos coronários controles-**C2** não foram significativamente diferentes daqueles obtidos durante a infusão de acetilcolina-**ACh2**, demonstrando que não houve aumento do fluxo coronário durante a administração de acetilcolina neste período. Os valores médios dos fluxos coronários durante a administração de acetilcolina-**ACh1** e na hiperemia reativa-**HR** não foram estatisticamente diferentes. Os valores médios dos fluxos coronários controles-**C1** (pré-oclusão) e controles-**C2** (reperfusão) mostraram-se significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Os **Gráficos** de 7 a 11 mostram o comportamento (perfis das médias) dos valores das variáveis **FC**, **PDAo**, **PSAo**, **PSVE** e **PDFVE**, nas cinco situações de fluxo estudadas (**C1**, **ACh1**, **HR**, **C2** e **ACh2**).

Gráfico 7. Perfis das médias da frequência cardíaca nas cinco situações de fluxo coronário



(* = ESTATISTICAMENTE DIFERENTES DO CONTROLE - C1)

C1 = fluxo coronário controle no período de pré-oclusão coronária

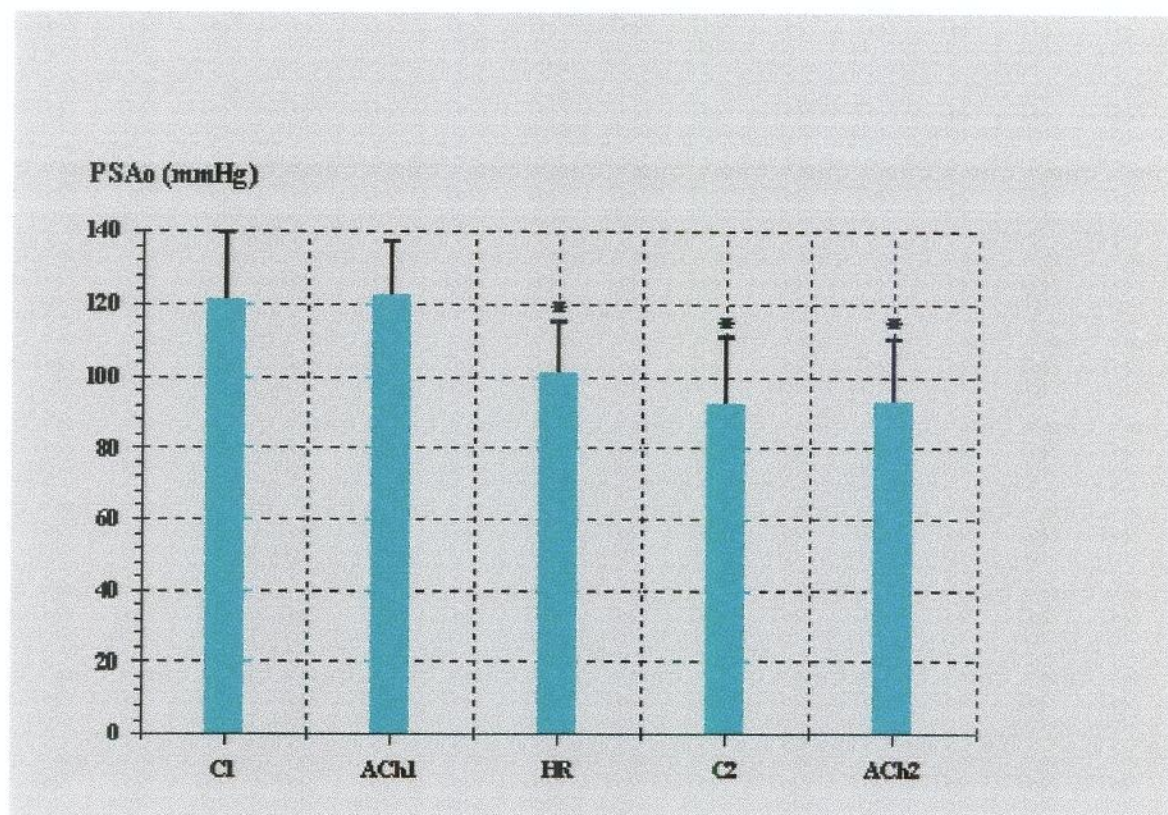
ACh1 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de pré-oclusão coronária

HR = fluxo coronário durante a hiperemia reativa (logo após a desoclusão coronária)

C2 = fluxo coronário controle no período de reperfusão coronária

ACh2 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de reperfusão coronária

Gráfico 8. Perfis das médias da pressão sistólica da aorta nas cinco situações de fluxo coronário



(* = ESTATISTICAMENTE DIFERENTES DO CONTROLE - C1)

C1 = fluxo coronário controle no período de pré-oclusão coronária

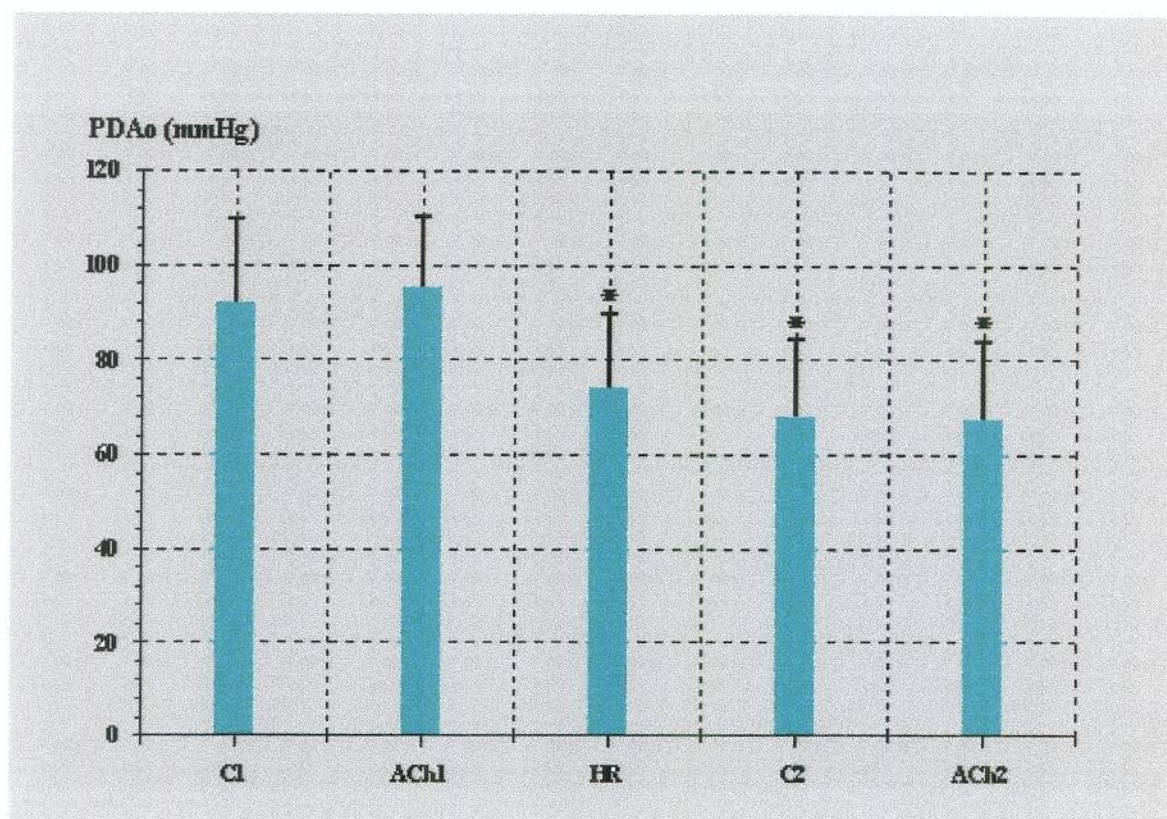
ACh1 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de pré-oclusão coronária

HR = fluxo coronário durante a hiperemia reativa (logo após a desoclusão coronária)

C2 = fluxo coronário controle no período de reperfusão coronária

ACh2 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de reperfusão coronária

Gráfico 9. Perfis das médias da pressão diastólica da aorta nas cinco situações de fluxo coronário



(* = ESTATISTICAMENTE DIFERENTES DO CONTROLE - C1)

C1 = fluxo coronário controle no período de pré-oclusão coronária

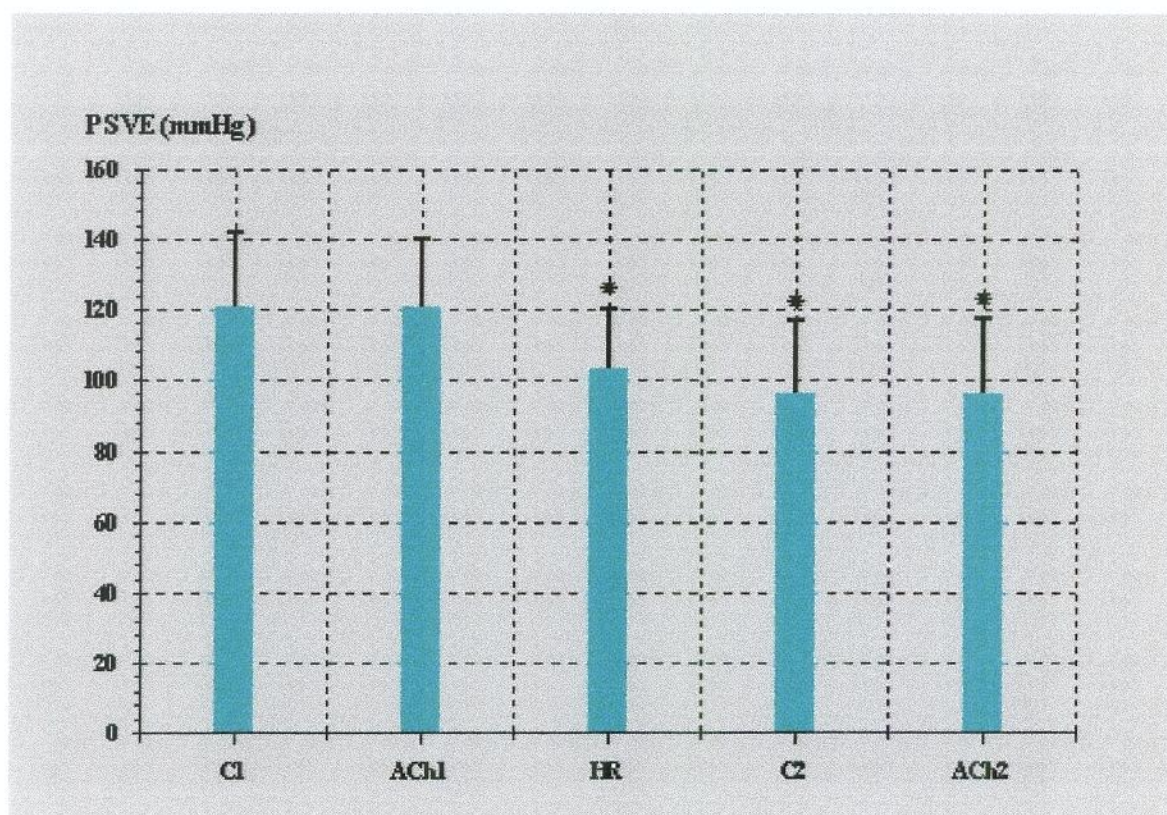
ACh1 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de pré-oclusão coronária

HR = fluxo coronário durante a hiperemia reativa (logo após a desoclusão coronária)

C2 = fluxo coronário controle no período de perfusão coronária

ACh2 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de perfusão coronária

Gráfico 10. Perfis das médias da pressão sistólica do ventrículo esquerdo nas cinco situações de fluxo coronário



(* = ESTATISTICAMENTE DIFERENTES DO CONTROLE - C1)

C1 = fluxo coronário controle no período de pré-oclusão coronária

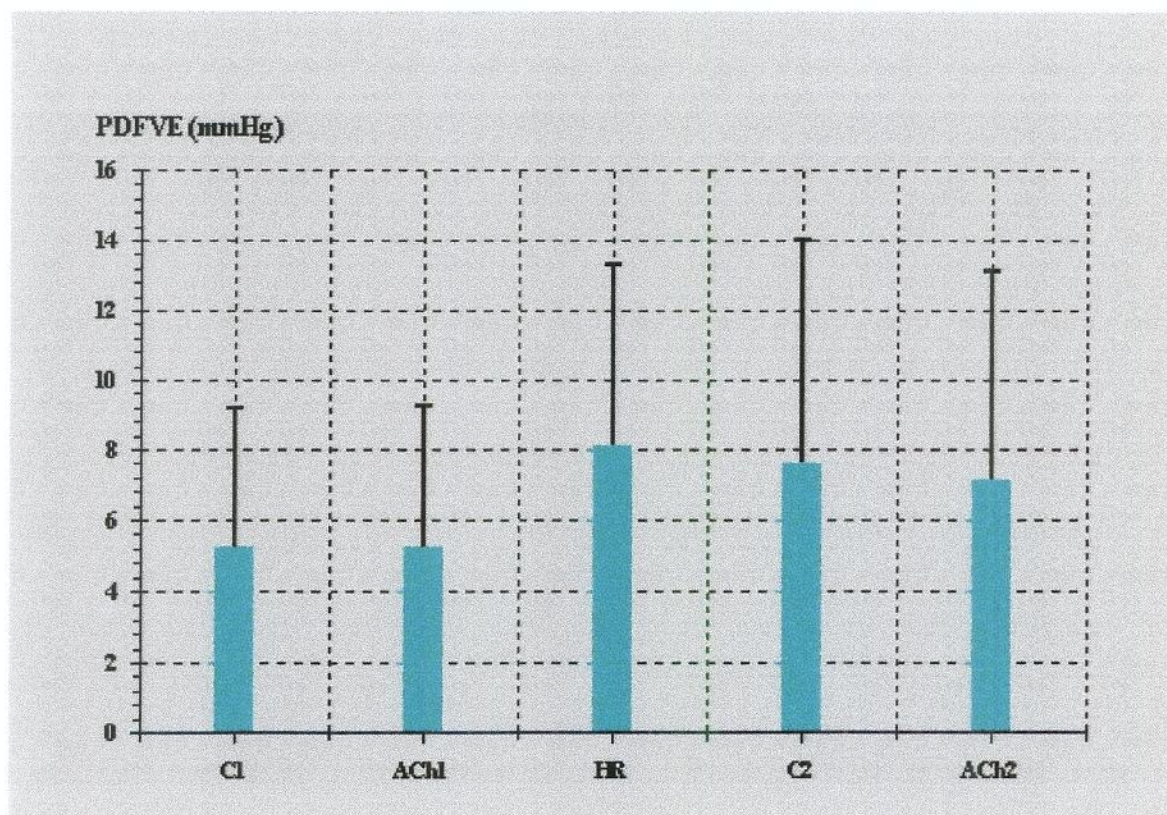
ACh1 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de pré-oclusão coronária

HR = fluxo coronário durante a hiperemia reativa (logo após a desocclusão coronária)

C2 = fluxo coronário controle no período de reperfusão coronária

ACh2 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de reperfusão coronária

Gráfico 11. Perfis das médias da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo nas cinco situações de fluxo coronário



C1 = fluxo coronário controle no período de pré-oclusão coronária

ACh1 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de pré-oclusão coronária

HR = fluxo coronário durante a hiperemia reativa (logo após a desoclusão coronária)

C2 = fluxo coronário controle no período de reperfusão coronária

ACh2 = fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, no período de reperfusão coronária

A observação do comportamento dos valores médios das variáveis frequência cardíaca, pressões sistólica e diastólica de aorta e pressão sistólica de ventrículo esquerdo, mostra que houve diminuição estatisticamente significativa desses parâmetros hemodinâmicos na situação controle-C2, durante a reperfusão (após 90 minutos de isquemia), quando comparados com a situação controle-C1 pré-oclusão ($p < 0,05$). Entretanto, a média da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo mostrou aumento significativo na situação controle-C2, durante a reperfusão, quando comparada com a situação controle-C1 pré-oclusão ($p < 0,05$).

A comparação entre os valores médios das variáveis frequência cardíaca, pressões sistólica e diastólica de aorta e pressões sistólica e diastólica final de ventrículo esquerdo, nas situações controles e durante a infusão de acetilcolina, tanto no período de pré-oclusão como no de reperfusão (C1-ACh1 e C2-ACh2), não revelou diferença estatisticamente significativa, caracterizando que o comportamento do fluxo coronário dependeu somente da situação de vasodilatação dependente do endotélio.

A coloração do miocárdio com o cloreto de trifêniltetrazolio revelou infarto do miocárdio em todos os corações examinados. Não foi medido o tamanho da área infartada.

VII. DISCUSSÃO

O estudo da hemodinâmica coronária, durante a reperfusão que sucede o infarto do miocárdio, revela diminuição da reserva circulatória e aumento da resistência ao fluxo sanguíneo local. A reserva circulatória coronária começaria a diminuir aos 20 a 30 minutos de reperfusão, progredindo até quatro horas, quando permaneceria em valores estáveis (PARKER et al., 1975; JOHNSON et al., 1988; CHU & COBB, 1989; RIBEIRO JORGE, CURTI, METZE, 1990).

Este processo, denominado fenômeno da não-reperfusão, está associado a alterações na microcirculação coronária, edema de capilares e acúmulo

de neutrófilos, que ocorreriam no curso da reperfusão (AMBROSE et al., 1989; RIBEIRO JORGE, CURTI, METZE, 1991).

A par do fenômeno da não-reperfusão, tem sido estudada a função do endotélio dos vasos coronários na isquemia/reperfusão, levando-se em conta as repercussões da disfunção endotelial sobre a vasomotricidade e a coagulação, em situações clínicas nas quais a isquemia precede a reperfusão. A função endotelial tem sido estudada para diferentes magnitudes de isquemia, em diferentes modelos experimentais.

O trabalho apresentado por KU (1982), parece ser um dos primeiros a abordar o assunto. Este autor produziu isquemia miocárdica através de oclusão da artéria descendente anterior de cães, durante 90 minutos, seguida de reperfusão por uma a duas horas. Utilizando anéis de artéria coronária de cães, demonstrou que a administração de trombina produz vasoconstrição, ao contrário da vasodilatação observada em preparações controles.

Posteriormente, em estudos de VAN BENTHUYSEN, MCMURTRY, HORWITZ (1987), estas observações se estenderam para um modelo experimental similar, demonstrando comprometimento do relaxamento dependente do endotélio à acetilcolina, em anéis de artéria coronária. Neste trabalho, os autores produziram oclusão do vaso por 60 minutos e estudaram a resposta vascular, também aos 60 minutos de reperfusão.

METHA et al. (1989), relataram diminuição da reserva coronária após isquemia e reperfusão. Em seu estudo utilizaram o cão como modelo experimental e mediram a resistência coronária durante a injeção de doses de acetilcolina e bradicinina na artéria descendente anterior. A oclusão coronária durou 60 minutos, seguida de reperfusão pelo mesmo tempo. Estes autores concluem que a reperfusão coronária compromete a reserva circulatória do vaso.

O efeito da isquemia/reperfusão na função endotelial, foi examinado por QUILLIEN et al. (1990), através de curvas de concentração-efeito em anéis coronários de cães. Suas conclusões referem que os vasos coronários de condutância são relativamente refratários à isquemia, com ou sem reperfusão. Estes autores observaram, ainda, que o processo isquêmico seguido de reperfusão, produz marcada alteração do relaxamento dependente do endotélio nos vasos coronários de resistência, embora a isquemia, isoladamente, não compromettesse a função endotelial destes vasos.

Outros autores têm discutido a possibilidade de que a disfunção endotelial, que ocorre na isquemia/reperfusão, apresente as características do "stunning" do miocárdio, havendo, portanto, comprometimento temporário da função do endotélio após isquemia/reperfusão (KIM et al., 1992).

O estudo do fluxo coronário, após administração de acetilcolina, tem sido feito em diferentes espécies animais, utilizando-se preparações do tipo Langendorff ou injetando-se a droga na própria circulação

coronária, após abertura do tórax e preparo instrumental do vaso. Os resultados tendem a depender do modelo experimental e da espécie animal utilizada.

No presente estudo, cabe ressaltar a magnitude da resposta do fluxo coronário, quando da administração de acetilcolina, alcançando valores de 155,5%. Este resultado leva à conclusão de que o cão apresenta uma grande densidade de receptores na célula endotelial, sensíveis à acetilcolina, apresentando-se, assim, como excelente modelo experimental, quando se pretende analisar a função endotelial por esta metodologia.

Outros animais de médio porte, como o porco, mostram vasoconstrição e diminuição do fluxo arterial (NAKAYAMA, OSOL, HALPERN, 1988) na presença de acetilcolina, o que representa restrição a estudos similares. Já os de pequeno porte, como o coelho e o rato, permitem o estudo do fluxo coronário dependente do endotélio somente através de preparações isoladas do coração, com as limitações decorrentes das dificuldades em estabilizá-las e controlar o metabolismo miocárdico, sua influência sobre os mecanismos de oferta-consumo e vasorregulação coronária.

Neste trabalho, após avaliação do fluxo coronário dependente do endotélio em condições circulatórias estáveis, procedeu-se à oclusão do vaso durante 90 minutos. Este tempo foi determinado com a intenção de se produzir infarto do miocárdio e analisar a ação da reperfusão sobre o endotélio dos vasos coronários, numa situação de isquemia miocárdica máxima, quando, supostamente,

as repercussões sobre a célula endotelial seriam mais evidentes. Neste estudo, não se mediu a dimensão do infarto, o qual poderia ser correlacionado com a intensidade da disfunção endotelial; somente se caracterizou a presença do mesmo através da reação com o cloreto de trifeniltetrazolio e os resultados obtidos foram interpretados como conseqüentes à situação em que a reperfusão ocorreu após isquemias graves.

Os demais parâmetros fisiológicos, como a frequência cardíaca, a pressão sistólica do ventrículo esquerdo e as pressões sistólica e diastólica da aorta, apresentaram diminuição de seus valores, paralelamente à ocorrência de infarto miocárdico. O mesmo não ocorreu com a pressão diastólica do ventrículo esquerdo, que se elevou, devido à diminuição da complacência do músculo cardíaco isquêmico. Entretanto, todos estes parâmetros permaneceram em valores semelhantes durante a avaliação dos fluxos coronários nos períodos controles e durante infusão de acetilcolina (C1, ACh1, C2 e ACh2), afastando uma eventual influência da hemodinâmica coronária sobre as medidas do fluxo dependente da vasodilatação imposta pela acetilcolina.

A elevação do fluxo durante a hiperemia reativa foi interpretada como preservação dos mecanismos de vasodilatação independentes do endotélio. Embora avaliada no início da reperfusão, prestou-se como referência de que a função muscular do vaso estava preservada e não influenciou a resposta do

fluxo coronário, quando da administração de acetilcolina durante a reperfusão miocárdica.

Os prováveis mecanismos envolvidos na disfunção endotelial observada na isquemia/reperfusão, apontam em direção aos radicais livres. A publicação de AMBROSE et al. (1986) revela que o fenômeno da não reperfusão decorre de um processo em curso com a reperfusão. Segundo estes autores, as lesões da microcirculação são mais evidentes após três horas e meia de reperfusão, mas já se mostram evidentes desde os dois minutos iniciais.

Durante a reperfusão, radicais livres seriam produzidos em maior intensidade nas células endoteliais, através da reação da xantina oxidase e pelos granulócitos aderidos à parede vascular (THOMPSON & HESS, 1986; BOLLI, 1990; LUCCHESI, 1987). Neste sentido, abriu-se um amplo campo de investigação sobre o efeito de "scavengers" de radicais livres e a redução de neutrófilos, na prevenção da injúria de reperfusão (AMBROSE et al., 1986; JOLLY et al., 1984; FORMAN et al., 1985; ENGLER, 1989). O trabalho publicado por TSAO et al. (1990) mostra, em acordo com os resultados de AMBROSE et al. (1986), que a injúria miocárdica progride com o decorrer da reperfusão. Utilizando o gato como animal de experimentação e produzindo oclusão coronária por 90 minutos, estes autores demonstraram que a atividade da creatina fosfoquinase no plasma eleva-se desde os dois minutos e meio de reperfusão, aumentando progressivamente até os 240 minutos. Estudando a função endotelial em anéis de

vasos coronários, verificaram que o relaxamento dependente do endotélio, pela administração de acetilcolina, está comprometido a partir do segundo minuto e meio de reperfusão. A disfunção do endotélio alcança intensidade sub-máxima aos 20 minutos de reperfusão e, depois deste período, agrava-se mais lentamente até os 240 minutos, sem alterações morfológicas das células endoteliais. Os autores admitem que a progressão das lesões está relacionada com a liberação de radicais livres, verificando, inclusive, normalização do relaxamento dependente do endotélio quando se faz um pré-tratamento do tecido vascular com superóxido dismutase.

No presente trabalho, a avaliação do fluxo coronário somente aos 20 minutos de reperfusão deveu-se aos resultados obtidos por TSAO et al. (1990), revelando que, neste espaço de tempo, as alterações funcionais do endotélio já são muito evidentes.

A elevação do fluxo coronário controle - C2 após o infarto miocárdico, quando comparado com o fluxo controle - C1 do período de pré-oclusão coronária, decorre, provavelmente, da persistência de mecanismos de vasodilatação compensatória. Entretanto, a administração de acetilcolina, nas mesmas condições hemodinâmicas (período de reperfusão), não elevou o fluxo coronário como no período de pré-oclusão coronária, do que se conclui a presença de comprometimento da função endotelial pós-infarto do miocárdio.

Vale discutir, à luz dos conhecimentos atuais, as possíveis repercussões da disfunção endotelial na prática médica, em situações semelhantes à da experimentação animal.

Não obstante estarem razoavelmente bem definidos os mecanismos envolvidos na chamada injúria de reperfusão, existe, ainda, controvérsia quanto à indução, pela reperfusão, da necrose celular e ampliação da área infartada (MIURA, 1990).

Alguns autores (AMBROSE et al., 1986; JOLLY et al., 1984) têm demonstrado limitação da área do infarto miocárdico na isquemia/reperfusão através da administração de superóxido dismutase, sugerindo que a reperfusão induziria a necrose miocárdica e que esta poderia ser evitada pela emprego de inibidores de radicais livres. Por outro lado, contudo, os estudos clínicos (ISIS II, 1988; GISSI, 1986) mostram diminuição da mortalidade com o uso de trombolíticos. Vem a questão a respeito da magnitude que teria a injúria de reperfusão e qual sua influência sobre a função ventricular, considerando-se a velocidade de restauração do fluxo sanguíneo miocárdico nas áreas que circundam o infarto. Estudos recentes, utilizando o isótopo tecnécio Sestamibi, têm demonstrado que a reperfusão, através de trombolíticos ou de angioplastia, resulta em salvamento de uma substancial extensão de miocárdio isquêmico (SINUSAS et al., 1990; CRISTIAN, GIBBONS, GERSH, 1991). Entretanto, é lícito cogitar qual seria a extensão do benefício, em termos de preservação miocárdica, se controlada

a injúria de reperfusão. Estas considerações estendem-se, em tese, às situações de angioplastia e de cirurgia cardiovascular com parada cardíaca anóxica.

As mesmas considerações relativas às lesões miocárdicas conseqüentes à reperfusão, podem ser levantadas em relação à disfunção endotelial que se instala nos vasos coronários de resistência. Mesmo sendo temporária, a disfunção terá implicações no ajuste circulatório miocárdico, assim como na adesão de neutrófilos, ativação e adesão plaquetárias, representando um potencial mecanismo de agravamento da restauração anatômica e funcional do miocárdio isquêmico. Por outro lado, o assunto traz novamente à discussão o eventual efeito de drogas que possam prevenir a disfunção endotelial, abrindo uma linha de investigação científica neste sentido.

VIII. CONCLUSÃO

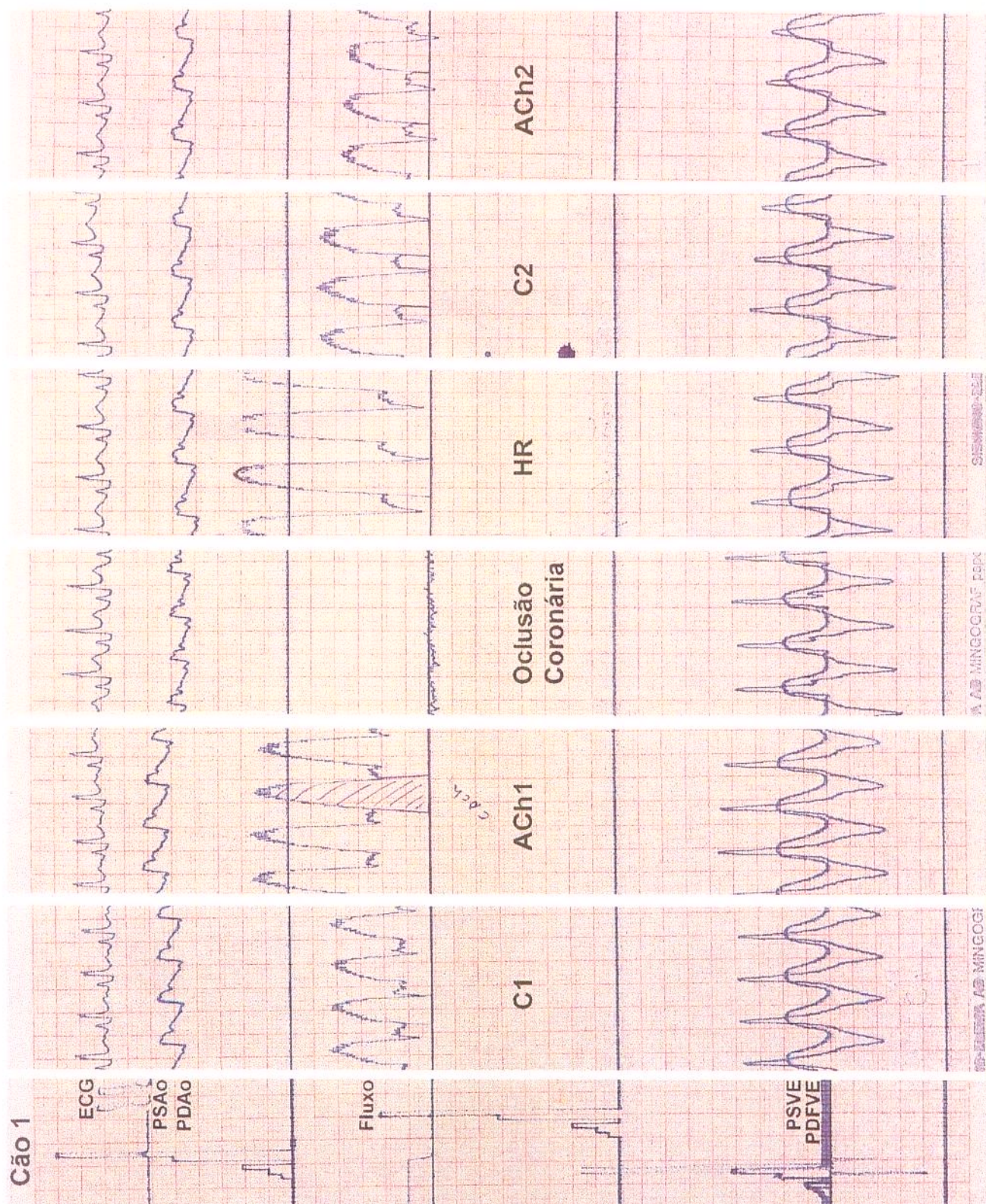
O autor conclui que a reperfusão que se seguiu ao infarto do miocárdio, levou a uma redução do fluxo coronário durante a administração de acetilcolina, em decorrência da disfunção endotelial que se instalou nos vasos coronários de resistência no período de restauração do fluxo sanguíneo ao músculo cardíaco.

IX. ANEXOS

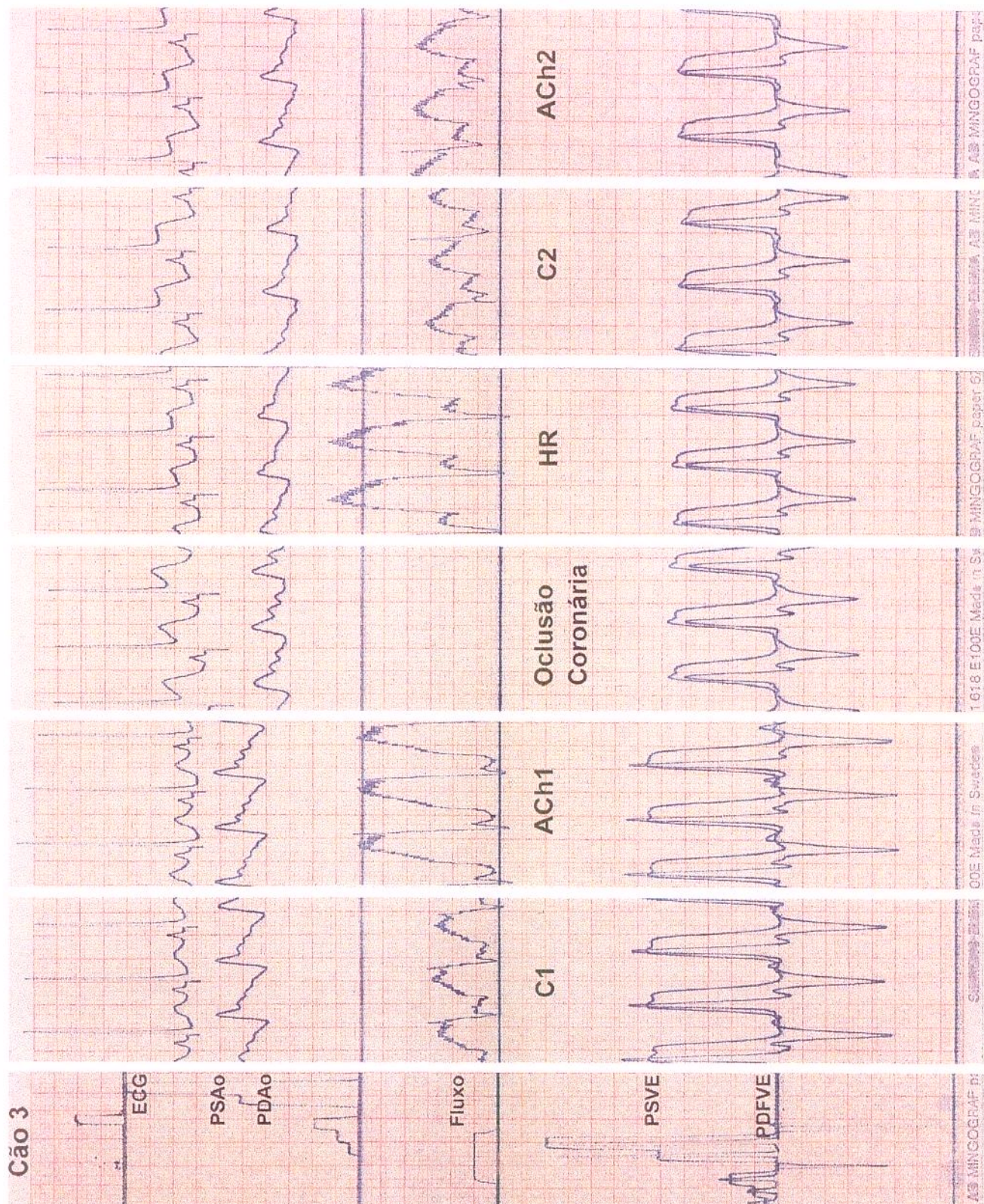
São apresentados, a seguir, os traçados dos registros dos 12 animais utilizados neste trabalho (**ANEXOS 1 a 12**).

A primeira derivada da pressão, embora ilustrada nos traçados, não foi considerada neste estudo.

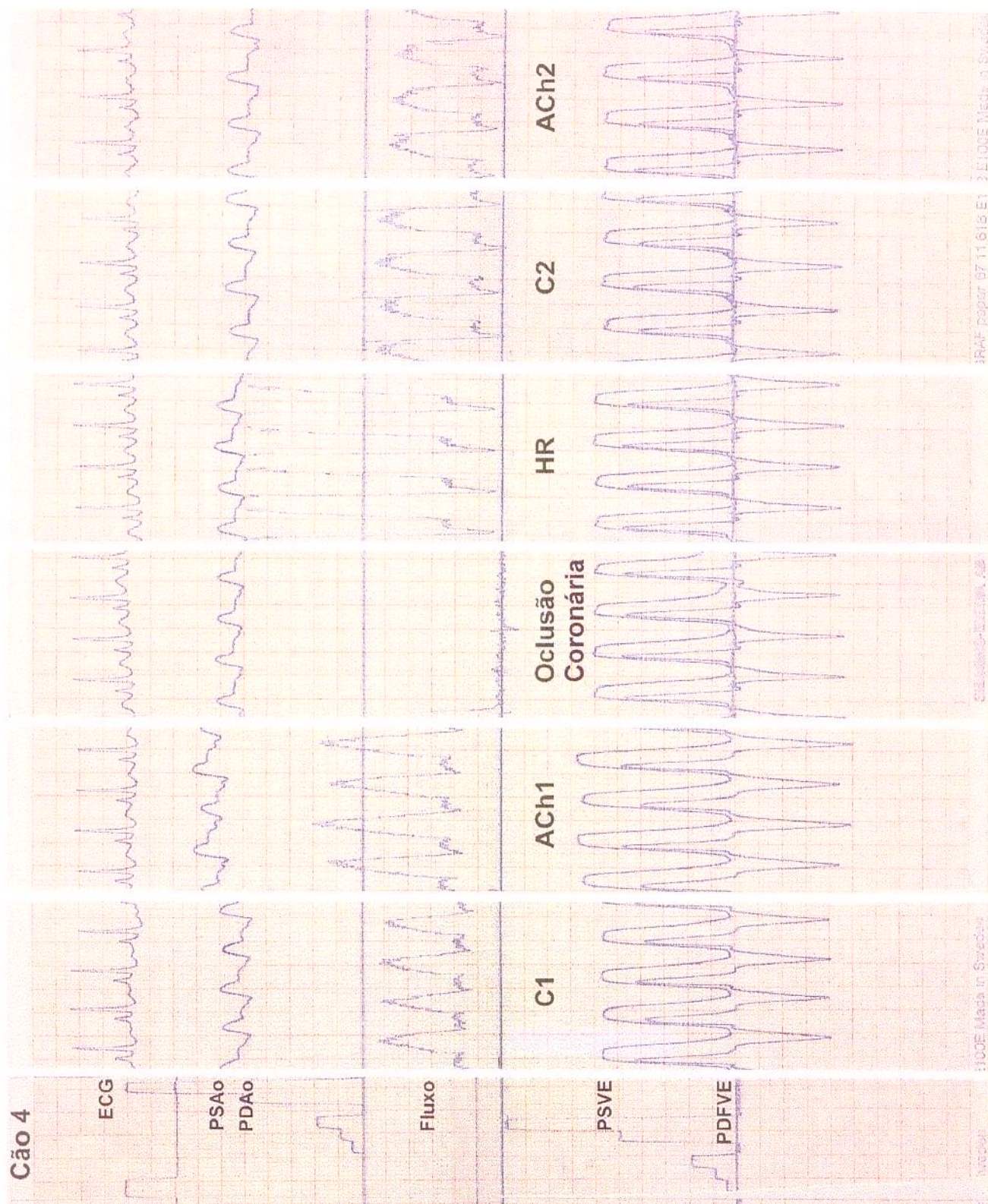
ANEXO 1



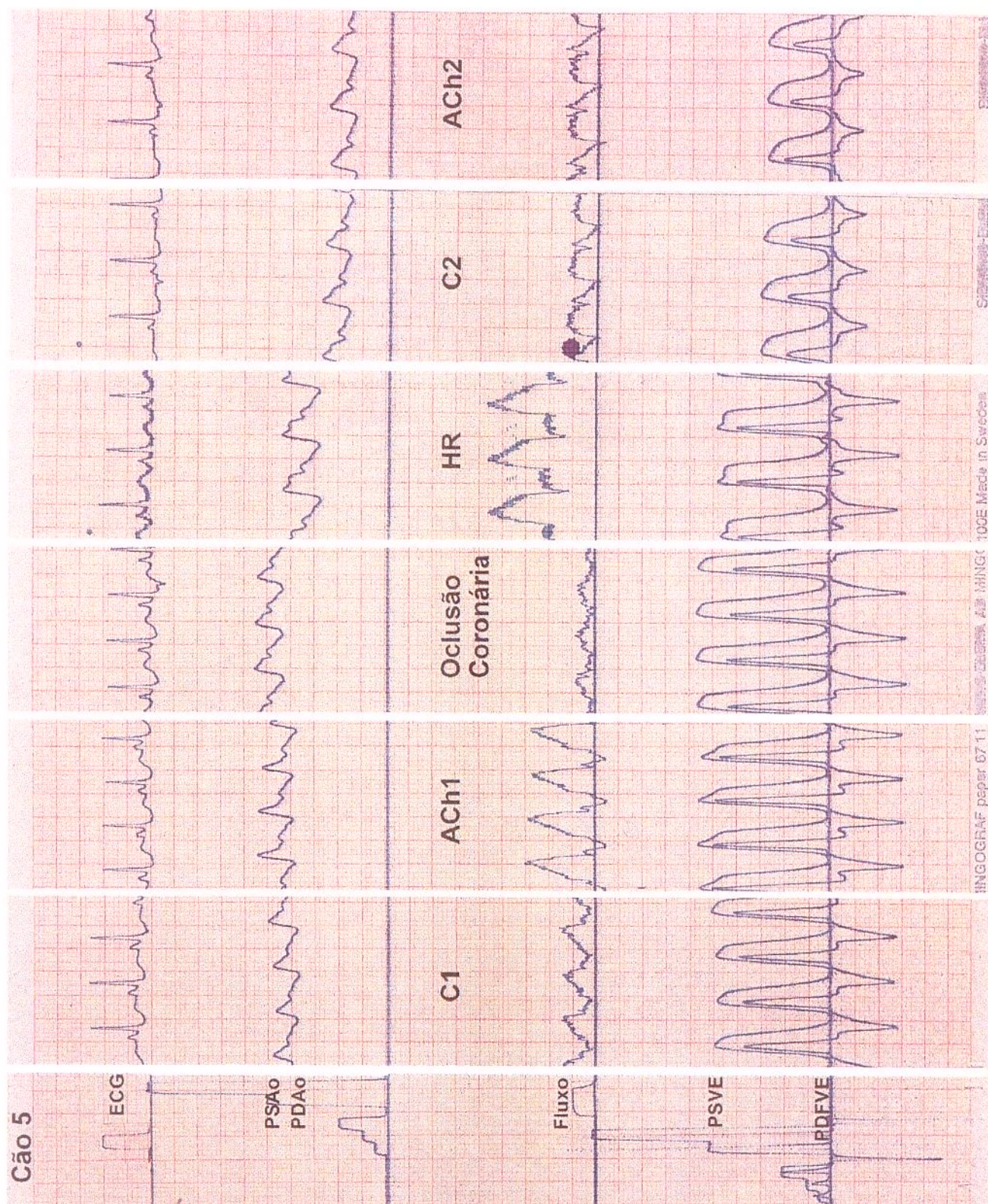
ANEXO 3



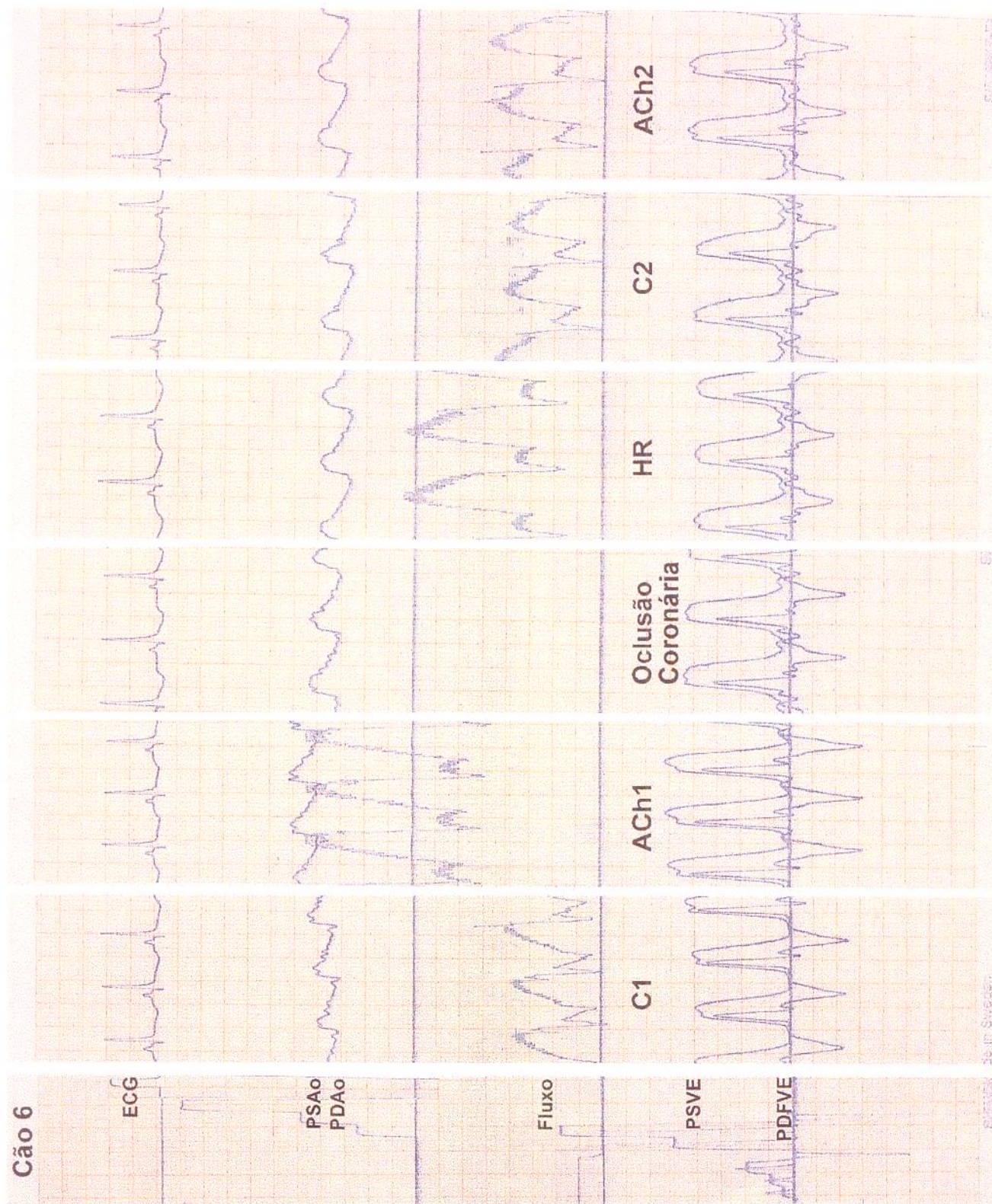
ANEXO 4



ANEXO 5



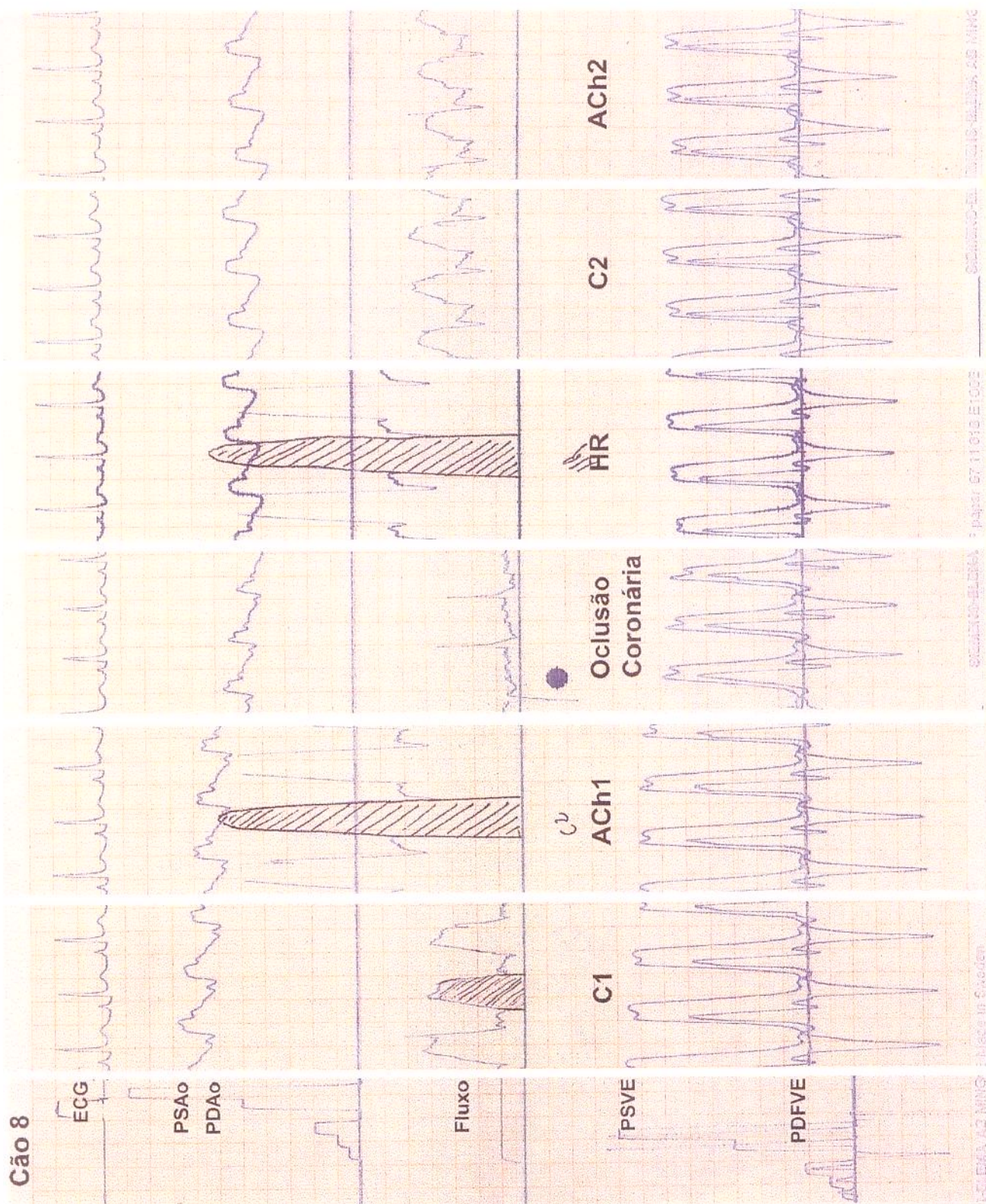
ANEXO 6



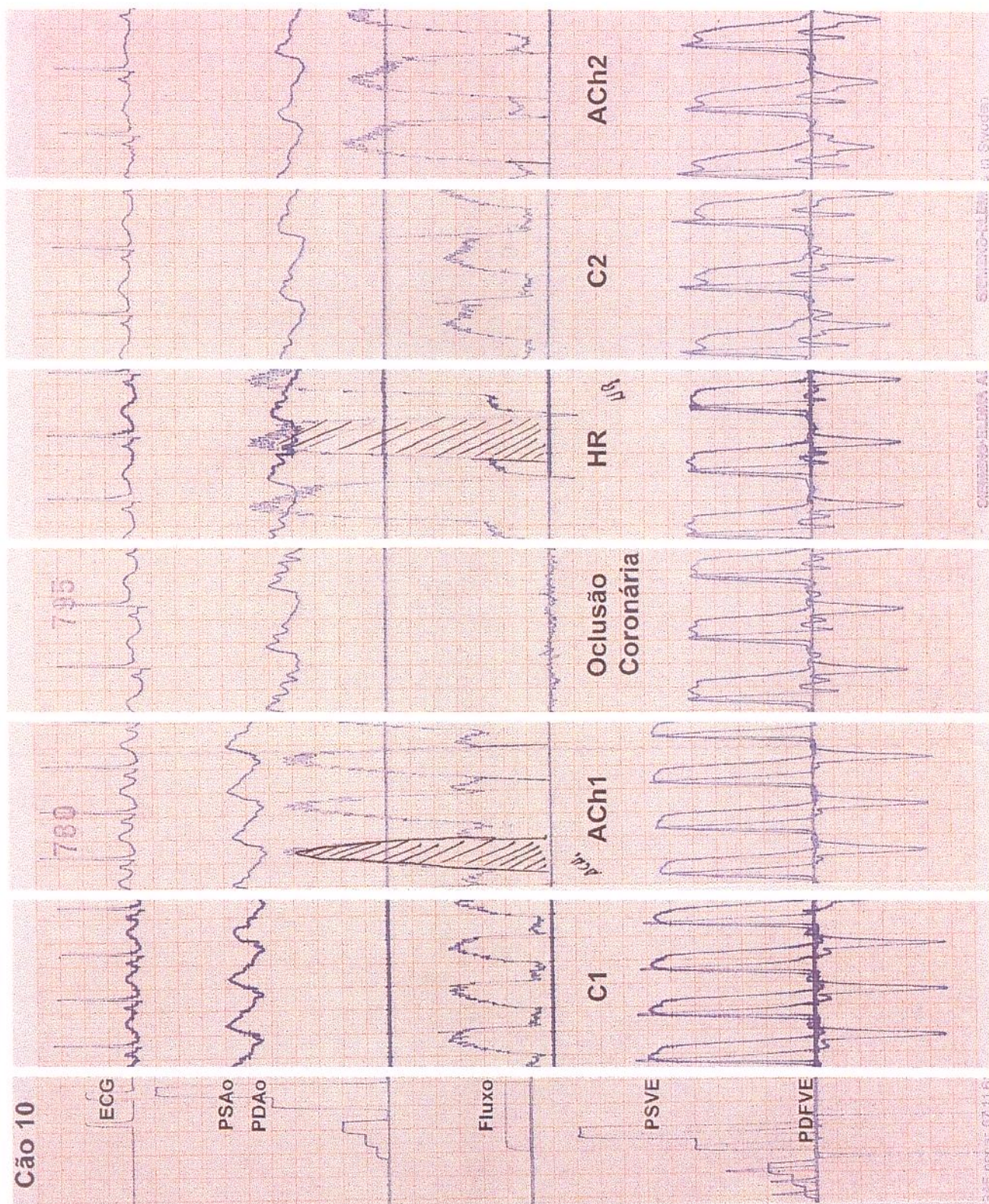
ANEXO 7



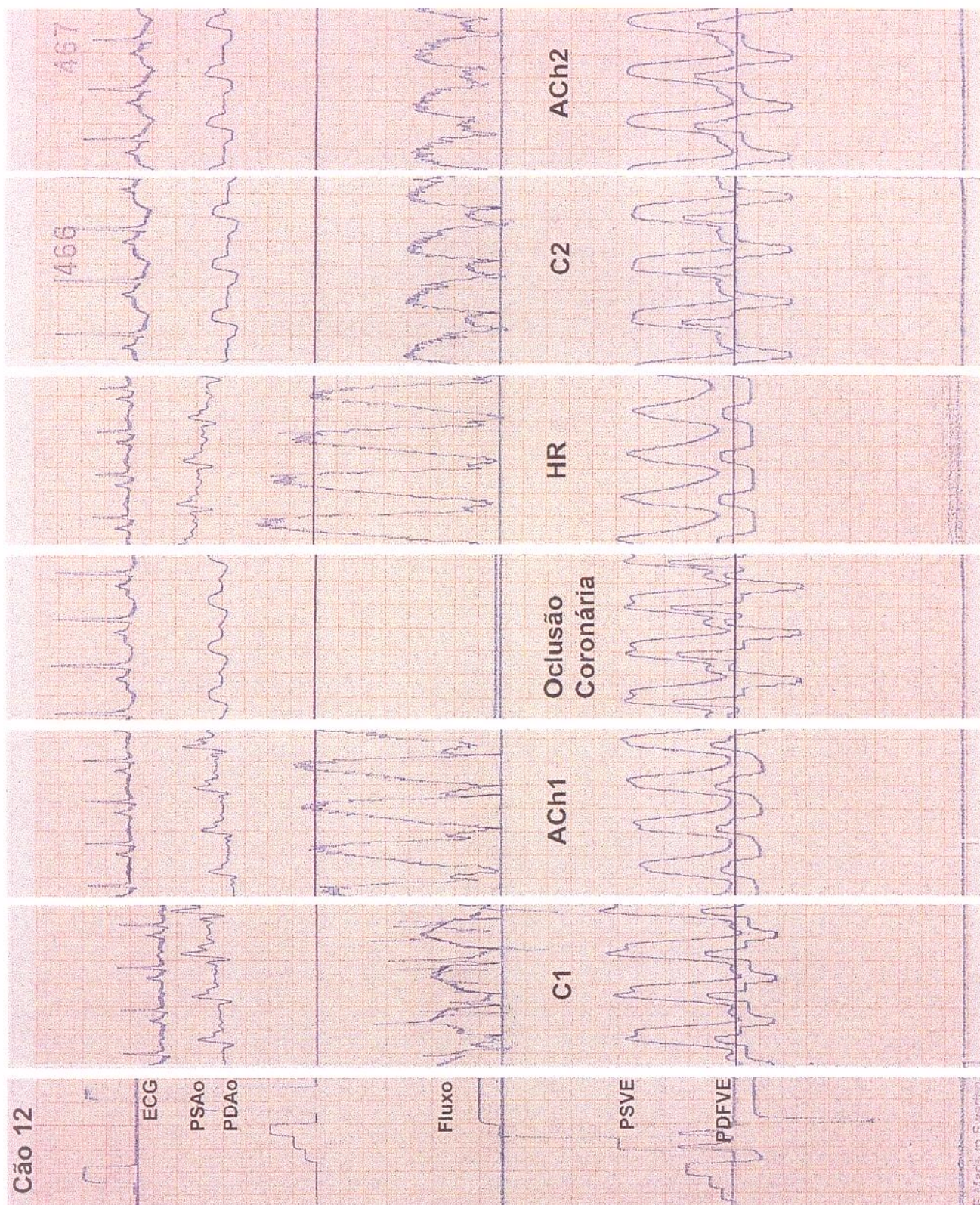
ANEXO 8



ANEXO 10



ANEXO 12



**ENDOTHELIAL FUNCTION OF THE RESISTANCE CORONARY
VESSELS IN THE ISCHEMIA/REPERFUSION:
EXPERIMENTAL STUDY**

X. SUMMARY

The aim of the present report was to study the effect of ischemia/reperfusion on the endothelial cell function of the resistance coronary vessels.

Twelve adult mongrel dogs weighing 12.0Kg to 25.0kg (mean weight of 17.7Kg) were studied. After anesthesia and thoracotomy, the anterior descending coronary artery was dissected and an electromagnetic flowmeter probe (Carolina Medical Electronics, Inc.) positioned near the coronary emergency. A needle connected to an infusion pump (B. Braun Melsungen AG) was introduced into the coronary artery for administration of acetylcholine at a rate of $15\mu\text{g/Kg/min}$. A thread was passed above the probe and around the artery for vessel occlusion and deocclusion. Two other needles were placed into the aortic root and left ventricular chamber for pressures measurement. Electrocardiogram was also registered. All the physiologic parameters were registered on a Siemens Mingograph 804 multi-channel recorder. The coronary vessel was occluded for 90

minutes, followed by 20 minutes of reperfusion. Coronary flow, electrocardiogram and the aortic and ventricular pressures were registered during the pre-occlusion period and after 20 minutes of reperfusion under basal conditions, as well as during acetylcholine administration. The same parameters were also registered during reactive hyperemia following vessel deocclusion.

A comparison between the coronary flows in the absence and presence of acetylcholine during the pre-occlusion period showed a 155.5% increase in flow ($P < 0.05$). In the reperfusion period, no statistically significant difference was observed between the flows in the absence and presence of that substance, nor there were differences in other physiologic parameters.

Triphenyltetrazolium staining showed myocardial infarction in all the hearts examined.

The author concludes that reperfusion following myocardial infarction reduces coronary flow during the administration of acetylcholine, as a result of endothelial dysfunction installed in the resistance coronary vessels during blood flow restoration.

XI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBROSE, G.; WEISMAN, H.F.; MANNISI, J.A.; BECKER, L.C. - Progressive impairment of regional myocardial perfusion after initial restoration of postschemic blood flow. **Circulation**, **80**:1846-1861, 1989.

AMBROSE, G.; BECKER, L.C.; HUTCHINS, G.M.; WEISMAN, H.F.; WEISFELDT, M.L. - Reduction in experimental infarct size by recombinant human superoxide dismutase. Insights into the pathophysiology of reperfusion injury. **Circulation**, **74**:1424-1433, 1986.

BEIGUELMAN, B. - **Curso Prático de Bioestatística**. 2ª. edição revisada. Publicado pela Revista Brasileira de Genética, 1991.

BOLLI, R. - Mechanism of myocardial "stunning". **Circulation**, **82**:723-738, 1990.

- BRAUNWALD, E. & KLONER, R. - Myocardial reperfusion: a double edge sword. **J. Clin. Invest.**, 76:1713-1719, 1985.
- CHU, A. & COBB, F.R. - Reperfusion alters the relation between flow and the remaining myocardial infarction. **Circulation**, 79:884-889, 1989.
- COBB, F.R.; BACHE, R.J.; RIVAS, F.; GREENFIELD, JR., J.C. - Local effects of acute cellular injury on regional myocardial blood flow. **J. Clin. Invest.**, 57:1359-1368, 1976.
- CRISTIAN, T.F.; GIBBONS, R.J.; GERSH, B.J. - Effect of infarct location on myocardial salvage assessed by Technetium-99 Isonitrite. **J. Am. Coll. Cardiol.**, 17:1303-1308, 1991.
- DAVIES, J.M.; PATH, F.R.C.; THOMAS, A.C.; PATH, B.S.M.R.; KNAPMAN, P.A.; HANGARTHER, J.R. - Intramyocardial platelet aggregation in patients with Unstable Angina suffering sudden ischemic cardiac death. **Circulation**, 73:418-427, 1986.
- ENGLER, R.L. - Free radical and granulocyte mediated injury during myocardial ischemia and reperfusion. **Am. J. Cardiol.**, 63:19E-23E, 1989.
- FISHBEIN, M.C.; RIT, Y.; LANDO, U. - Early phase of acute myocardial infarction size quantification: validation of tripheniltetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. **Am. Heart J.**, 101:593-600, 1981.
- FORMAN, M.B.; BINGHAN, S.; KOPELMAN, H.A.; WEHR, C.; SANDLER, M.P.; KOLODIE, F.; VAUGHN, W.K.; FRIESINGER, G.C.; VIRMANI, R. - Reduction of infarct size with intracoronary perfluorochemical in a canine preparation of reperfusion. **Circulation**, 71:1060-1068, 1985.

FURCHGOTT, R.F. - Role of endothelium in response of vascular smooth muscle. **Circ. Res.**, **53**:557-573, 1983.

GISSI - Grupo Italiano per lo Studio della Streptochinase nell'Infarto del miocardio. Effectiveness of intra-venous thrombolytic treatment in acute myocardial infarction. **Lancet**, **1**:397-401, 1986.

ISIS II - Colaborative Group Randomized Trial of Intravenous Streptokinase. Oral aspirin, both or neither among 17187 cases of suspected myocardial infarction. **Lancet**, **2**:349-360, 1988.

JENNINGS, R.B.; SCHAPER, J.; HILL, M.L.; STEENBERGEN, C.; REIMER, K.A. - Effect of reperfusion late in the phase of reversible ischemic injury. **Circ. Res.**, **56**:262-278, 1985.

JOHNSON, W.B.; MALONE, S.A.; PANTLEY, G.A.; ANSELONE, C.G.; BRISTOW, J.D. - No reflow and extent of infarction during maximal vasodilatation in porcine heart. **Circulation**, **78**:462-472, 1988.

JOLLY, S.R.; KANE, W.J.; BAILIE, M.B.; ABRAMS, G.D.; LUCCHESI, B.R. - Canine myocardial reperfusion injury: its reduction by the combinant administration of superoxide dismutase and catalase. **Circ. Res.**, **54**:277-285, 1984.

KIM, Y.D.; FOMSGAARD, J.S.; HEIM, K.F.; RAMWELL, P.W.; THOMAS, G.; KAGAN, E.; MOORE, S.P.; COUGHLIN, S.S.; KUWHARA, M.; ANALOUET, A.; MYERS, A.K. - Brief ischemia-reperfusion induces stunning of endothelium in canine coronary artery. **Circulation**, **85**:1473-1482, 1992.

- KLONER, R.A.; GANOTE C.E.; JENNINGS R.B. - The "no reflow" phenomenon after temporary coronary occlusion in the dog. **J. Clin. Invest.**, **54**:1496-1508, 1974.
- KU, D.D. - Coronary vascular reactivity after acute myocardial ischemia. **Science**, **218**:576-578, 1982.
- LUCCHESI, B.R. - Role of neutrophils in ischemic heart disease: pathophysiologic role in myocardial ischemia and coronary artery reperfusion. In METHA, J.L.; CONTI, C.R.; BREST, A.M.- **Thrombosis and platelets in myocardial ischemia**. Philadelphia. F.A. Davis Co., 1987. p. 35-48.
- METHA, J.L.; NICHOLS, W.W.; DONNELLY, W.H.; LAWSON, D.L.; SALDEEN, T.G.P. - Impaired canine coronary vasodilator response to acetylcholine and bradykinin after occlusion-reperfusion. **Circ. Res.**, **64**:43-54, 1989.
- MIURA, T. - Does reperfusion induce myocardial necrosis? **Circulation**, **82**:1070-1072, 1990.
- NAKAYAMA, K.; OSOL, G.; HALPERN, W. - Reactivity of isolated porcine coronary resistance arteries to cholinergic and adrenergic drugs and transmural pressure changes. **Circ. Res.**, **62**:741-748, 1988.
- NEJIMA, J.; KNIGHT, D.R.; FALLON, J.T.; UEMURA, N.; MANDERS, W.T.; CANFIELD D.R.; COEHEN M.V.; VATNER S.F. - Superoxide dismutase reduces arrhythmias but fails to salvage regional functions or myocardial at risk in conscious dogs. **Circulation**, **79**:143-153, 1989.

PALMER, R.M.J.; FERRIDGE, A.G.; MONCADA, S. - Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. **Nature**, **327**:514-526, 1987.

PARKER, P.E.; BASHOUR, A.; DOWNEY, F.; KECHEJIAN, J.; WILLIAMS, G. - Coronary hemodynamics during reperfusion following acute coronary ligation in dogs. **Am. Heart J.**, **90**:593-599, 1975.

PIANA, R.N.; PAIK, G.Y.; MOSCUCCI, M.; COHEN, D.J.; GIBSON, C.M.; KUGELMASS, A.D.; CAROZZA, J.P.; KUNTZ, R.E.; BAIM, D.S. - Incidence and treatment of "no reflow" after percutaneous coronary intervention. **Circulation**, **89**:2514-2518, 1994.

PRYZKLENK, K. & KLONER, R.A. - Reperfusion injury by oxygen free radicals? Effect of superoxide dismutase plus catalase, given at the time of reperfusion, on myocardial infarct size, contractile function, coronary microvasculature and regional myocardial blood flow. **Circ. Res.**, **64**:86-96, 1989.

QUILLIEN, J.E.; SELKE, F.W.; BROOKS, L.A.; HARRISON, D.G. - Ischemia-reperfusion impairs endothelium-dependent relaxation of coronary microvessels but does not affect large arteries. **Circulation**, **82**:586-594, 1990.

RIBEIRO JORGE, P.A.; CURTI, H.; METZE, K. - A microcirculação coronária na reperfusão miocárdica. O fenômeno da não-reperfusão. **Arq. Bras. Cardiol.**, **56**:471-476, 1991.

RIBEIRO JORGE, P.A.; CURTI, H.; METZE, K. - A reserva circulatória durante a reperfusão no infarto do miocárdio. **Arq. Bras. Cardiol.**, **55**:3, 1990.

SERRUYS, P.W.; SURYAPRANATA, H.; PISCIONI, F.; HARMSSEN, E.; VAN DEN BRAND, M.; FEYTER, P.; HUGENHOLTZ, P.G.; JONG, J.W. - Myocardial release of hypoxanthine and lactate during percutaneous transluminal angioplasty. **Am. J. Cardiol.**, **63**:45E-51E, 1989.

SINUSAS, A.J.; TRAUTMAN, K.A.; BERGIN, J.D.; WATSON, D.D.; RUIZ, M.; SMITH, W.H.; BELLER, G.A. - Quantification of area at risk during coronary occlusion and degree of myocardial salvage after reperfusion with Technetium-99m Methoxyisobutyl Isonitrile. **Circulation**, **82**:1424-1437, 1990.

THOMPSON, J.A. & HESS, M.L. - The oxygen free radical system: A fundamental mechanism in the production of myocardial necrosis. **Prog. Cardiovasc. Dis.**, **28**:449-462, 1986.

TSAO, P.S.; NOBUO, B.S.; AOKI, N.; LEFER, D.J.; JOHNSON, G.; LEFER, A.M. - Time course of endothelial dysfunction and myocardial injury during myocardial ischemia and reperfusion in the cat. **Circulation**, **82**:1402-1412, 1990.

VAN BENTHUYSEN, K.M.; MCMURTRY, I.F.; HORWITZ, L.D. - Reperfusion after acute coronary occlusion in dogs impairs endothelium-dependent relaxation to acetylcholine and augments contractile reactivity *in vitro*. **J. Clin. Invest.**, **79**:265-274, 1987.