

AMAURY EDGARDO MONT'SERRAT ÁVILA SOUZA DIAS

**DINÂMICA DO ESTRESSE OXIDATIVO, COBRE E ZINCO DURANTE
A CIRURGIA DE REVASCULARIZAÇÃO MIOCÁRDICA**

CAMPO GRANDE

2012

AMAURY EDGARDO MONT´SERRAT ÁVILA SOUZA DIAS

**DINÂMICA DO ESTRESSE OXIDATIVO, COBRE E ZINCO DURANTE
A CIRURGIA DE REVASCULARIZAÇÃO MIOCÁRDICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Petr Melnikov

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Lourdes Zélia
Zanoni Consolo

CAMPO GRANDE

2012

FOLHA DE APROVAÇÃO

AMAURY EDGARDO MONT´SERRAT ÁVILA SOUZA DIAS

**DINÂMICA DO ESTRESSE OXIDATIVO, COBRE E ZINCO DURANTE
A CIRURGIA DE REVASCULARIZAÇÃO MIOCÁRDICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Resultado _____

Campo Grande (MS), _____ de _____ de 2012

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____

Instituição _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____

RESUMO

Dias AEMSA. Dinâmica das concentrações de cobre, zinco e do estresse oxidativo durante a cirurgia de revascularização miocárdica. Campo Grande; 2012. [Dissertação – Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

A revascularização miocárdica é acompanhada por diferentes alterações metabólicas desencadeadas pelo procedimento cirúrgico. O objetivo deste estudo prospectivo foi determinar e correlacionar a dinâmica das concentrações de cobre, zinco e do estresse oxidativo durante a cirurgia de revascularização miocárdica com circulação extracorpórea, sob hipotermia leve e pinçamento aórtico intermitente. No estudo participaram 16 pacientes com faixa etária de 46 a 76 anos, portadores de coronariopatia obstrutiva com indicação cirúrgica. As amostras de sangue foram coletadas da circulação sistêmica no momento da indução anestésica, do retorno venoso sistêmico e do seio coronariano quatro minutos após a remoção de cada pinçamento aórtico e da circulação sistêmica após 4 minutos da finalização da circulação extracorpórea. As dosagens do zinco e cobre foram feitas por meio de espectroscopia de absorção atômica. O marcador do estresse oxidativo, o malondialdeído, foi dosado utilizando a técnica espectrofotométrica. Foi mostrado que as concentrações plasmáticas do cobre no pré-operatório foram maiores em comparação as relatadas na literatura, confirmando níveis locais mais altos em Mato Grosso do Sul. A redução das concentrações de cobre durante a circulação extracorpórea foi maior do que aquela prevista para a hemodiluição, indicando o envolvimento dos processos inflamatórios locais. A dinâmica das concentrações de cobre durante a cirurgia de revascularização miocárdica reflete seu papel como elemento traço fundamental no fenômeno de estresse oxidativo. Como resultado, o impacto da isquemia-reperfusão faz com que os níveis de cobre subam durante a intervenção cirúrgica, voltando aos níveis básicos devido à atenuação do estresse oxidativo. Em contraste com o cobre, o comportamento do zinco reflete seu papel protetor do miocárdio. As concentrações plasmáticas de zinco no pré-operatório concordam com os dados da literatura para a população geral. Os resultados das dosagens de malondialdeído mostram claramente que, a revascularização miocárdica com circulação extracorpórea é acompanhada de surto de radicais livres com a tendência deste diminuir progressivamente. O comportamento das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), apesar das diferenças nas metodologias, apresenta-se semelhante, indicando que o estresse oxidativo é um componente patofisiológico inevitável.

Palavras-chave: estresse oxidativo, cobre, zinco, circulação extracorpórea, revascularização miocárdica

ABSTRACT

Dias AEMSA. Dynamics of oxidative stress, copper and zinc during coronary bypass artery grafting. Campo Grande, 2012. [Thesis - Faculty of Medicine, Federal University of Mato Grosso do Sul].

The coronary artery bypass grafting is accompanied for different metabolic alterations as a result for surgical procedure. The aim of this study was to determine and correlate the dynamics of the concentrations of copper, zinc and oxidative stress during coronary artery surgery bypass, surgery with cardiopulmonary bypass, under mild hypothermia and intermittent aortic clamping. The study involved 16 patients aged from 46 to 76 years, with obstructive coronary artery disease needing surgical intervention. Blood samples were collected from the systemic circulation at the time of anesthetic induction, from systemic venous return and from coronary sinus, four minutes after the removal of each clamping, and from the systemic circulation after 4 minutes after of cardiopulmonary bypass has been completed. The measurements of zinc and copper were carried out using atomic absorption spectroscopy technique. The malondialdehyde levels were determined using the a spectrophotometric method. Plasma concentrations of copper in the preoperative period were shown to be higher in comparison with those reported in the available literature, confirming local levels being higher in Mato Grosso do Sul. The reduction of copper concentration during cardiopulmonary bypass was higher than that resulting from hemodilution, thus indicating the involvement of local inflammatory processes. The dynamics of copper concentrations during coronary artery bypass grafting reflects the role of this metal as an essential trace element regarding oxidative stress. As a result, the impact of ischemia-reperfusion makes rise copper levels during surgery, with return to baseline levels due to the oxidative stress attenuation. In contrast to copper, zinc dynamics reflects its protective role in myocardial function. Plasma concentrations of zinc in preoperative period are in agreement with literature data as known for the general population. The results of measurements of malondialdehyde clearly show that coronary artery bypass grafting with cardiopulmonary bypass is accompanied by a burst of free radicals with its trend for as steady decline. The behavior of thiobarbituric acid reactive species (TBARS), despite differences in methodologies, presents similar picture, indicating that oxidative stress is an inevitable constituent of pathophysiological processes.

Keywords: oxidative stress, copper, zinc, cardiopulmonary bypass, myocardial revascularization

AGRADECIMENTOS

- Quero agradecer, em primeiro lugar, a Deus, pela força, coragem e perseverança durante toda minha caminhada;
- Agradeço também a todos os professores que me acompanharam durante a pós-graduação, em especial ao Prof. Dr. Petr Melnikov e à Profa. Lourdes Zélia Zanoni, paciosos orientadores, responsáveis diretos pela realização deste trabalho.
- Dedico esta, bem como todas as minhas demais conquistas, aos meus amados pais Adson e Elenir, bem como à minha amada esposa Simone e meu filho Arthur, que apesar de estarem alheios aos conhecimentos do presente trabalho, apoiaram-me para que o mesmo fosse concluído.
- Aos pacientes, pois apesar de se encontrarem em um momento de fragilidade diante de sua moléstia, apresentaram-se dispostos e entendedores da necessidade da aquisição de conhecimento por parte daqueles que os assiste – o médico.
- Enfim, a todos que fizeram parte, direta ou indiretamente, da rede de assistência ao paciente enfermo, desde aquele que possibilitou a chegada do mesmo ao Hospital, até àquele que efetuou o atendimento mais complexo com intuito de promover o bem estar, senão cura do referido enfermo.

EPIGRAFE

“Há homens que lutam um dia e são bons.

Há outros que lutam um ano e são melhores.

Há os que lutam muitos anos e são muito bons.

Porém, há os que lutam toda a vida.

Esses são os imprescindíveis.”

BERTOLT BRECHT

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estatística descritiva das variáveis fração de ejeção (FE), tempo do 1º e 2º pinçamento aórtico (PA) e tempo total de CEC. Campo Grande, 2012.....	36
Tabela 2 – Estatística descritiva das variáveis PaO ₂ , glicemia, cálcio e magnésio iniciais e finais. Campo Grande, 2012.....	37
Tabela 3 – Correlação linear de Pearson entre a fração de ejeção dos pacientes e as dosagens de cobre, zinco e TBARS no momento A1 e A2. Campo Grande, 2012.....	38
Tabela 4 – Comparação das dosagens de TBARS entre homens e mulheres ao longo do procedimento. Campo Grande, 2012.....	38
Tabela 5 – Correlação linear de Pearson entre a idade dos pacientes e as dosagens de cobre, zinco e TBARS no momento A1 e A2. Campo Grande, 2012.....	39
Tabela 6 – Comparação das dosagens de cobre (mg/L), zinco (mg/L) e TBARS (ng/ml), entre a indução anestésica (A1), linha venosa (B1) e seio coronário (SC1). Campo Grande, 2012.....	40
Tabela 7 – Comparação das dosagens de cobre (mg/L), zinco (mg/L) e TBARS (ng/ml), entre a indução anestésica (A1), linha venosa (B2) e seio coronário (SC2). Campo Grande, 2012.....	41
Tabela 8 – Comparação das dosagens de cobre (mg/L), zinco (mg/L) e TBARS (ng/ml), entre os dois períodos de reperfusão (B1 com B2 e SC1 com SC2). Campo Grande, 2012.....	42
Tabela 9 – Comparação das dosagens de cobre, zinco e TBARS, entre o último período de reperfusão e após o encerramento de CEC (B2/A2 e SC2/A2). Campo Grande, 2012.....	43

Tabela 10 – Comparação das dosagens de cobre (mg/L), zinco (mg/L) e TBARS (ng/ml), entre a linha venosa (B1 e B2) e o seio coronário (SC1 e SC2) após os dois momentos de despinçamento aórtico. Campo Grande, 2012.....	44
Tabela 11 – Comparação das dosagens médias de cobre (mg/L), zinco (mg/L) e TBARS (ng/ml), na indução anestésica (A1) e após o encerramento da CEC(A2). Campo Grande, 2012.....	45
Tabela 12 – Correlação linear de Pearson entre o tempo de pinçamento aórtico (PA) e as dosagens de cobre (mg/L), zinco (mg/L) e TBARS (ng/ml), na linha venosa (B) e seio coronário (SC). Campo Grande, 2012.....	46
Tabela 13 – Correlação linear de Pearson entre o tempo total de pinçamento aórtico e as dosagens de cobre (mg/L), zinco (mg/L) e TBARS (ng/ml), na linha venosa (B2) e seio coronário (SC2). Campo Grande, 2012.....	47
Tabela 14 – Correlação entre o tempo de CEC e as dosagens de cobre (mg/L), zinco (mg/L) e TBARS (ng/ml) após o encerramento do bypass (A2). Campo Grande, 2012.....	48

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Esquema representando a disfunção endotelial após isquemia reperusão.
Adaptado Evora *et al.* Arquivos Brasileiros de Cardiologia.....19
- Figura 2 – Esquema representando as vias envolvidas na produção das ERMO e suas ações no sistema cardiovascular. (Giordano FJ, 2005).....22
- Figura 3 – Coordenação tetraédrica com o átomo de zinco na posição central.....28
- Figura 4 – Esquema ilustrando a independência do retorno venoso sistêmico e do seio coronário para coleta de amostras seletivas.....35
- Figura 5 – Representação esquemática da dinâmica das concentrações de cobre.
Abreviações no texto. (↑↓) significa o sinal da variação.....53
- Figura 6 – Representação esquemática da dinâmica das concentrações de zinco.
Abreviações no texto. (↑↓) significa o sinal da variação.....58
- Figura 7 – Representação esquemática da dinâmica das concentrações de TBARS.
Abreviações no texto. (↑↓) significa o sinal da variação.....64

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CEC – circulação extracorpórea

Cu – cobre

CK-MB – creatino fosfoquinase, fração MB

ERMO – espécies reativas do metabolismo do oxigênio

Fe – ferro

$\text{HO}^{2\bullet}$ – hidroperoxila

H_2O_2 – peróxido de hidrogênio

MDA – malondialdeído

min – minutos

mg/dl – miligramas por decilitro

mg/l – miligramas por litro

ng/ml – nanogramas por mililitro

mmHg – milímetros de mercúrio

$\text{OH}^\bullet$ – hidroxila

$\text{O}^{2-\bullet}$ – superóxido

TBARS – espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico

Zn – zinco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 A cirurgia cardíaca, um breve histórico.....	18
2.2 A circulação extracorpórea.....	19
2.3 Isquemia e reperfusão.....	20
2.4 Radicais livres e espécies reativas do oxigênio.....	21
2.5 A lipoperoxidação como Indicador pró-oxidante.....	24
2.6. O cobre e as espécies reativas do oxigênio.....	26
2.7 Defesas antioxidantes.....	28
2.8 O papel do zinco.....	29
3 OBJETIVOS.....	32
4 CASUÍSTICA E MÉTODO.....	33
4.1 População.....	33
4.2 Circulação extracorpórea.....	33
4.3 Amostras de sangue e análise laboratorial.....	34
4.4 Análise estatística.....	37
5 RESULTADOS.....	38
6 DISCUSSÃO.....	51
7 CONCLUSÕES.....	67
REFERÊNCIAS.....	68

1 INTRODUÇÃO

Há várias décadas, as síndromes isquêmicas miocárdicas são objeto das mais variadas investigações quanto à etiologia, patogenia, evolução e tratamento com a nobre finalidade de se alcançar o melhor prognóstico.

O infarto agudo do miocárdio (IAM) foi responsável por aproximadamente 76.000 óbitos no Brasil no ano de 2009 [Fonte DATASUS], sendo considerado uma das principais causas de morte no país. Esses dados coincidem com aqueles encontrados em países desenvolvidos.

Não se conhece o exato número de infartos que ocorre anualmente em nosso país, porém a proporção de óbito é estimada em torno de 8%, o que confere a esta doença, elevada taxa de mortalidade, apesar dos inúmeros avanços terapêuticos obtidos ao longo dos anos (Fonte DATASUS).

Na década de 50, a mortalidade hospitalar por infarto agudo situava-se ao redor de 30%. Com o advento das Unidades de Tratamento Intensivo e das Unidades Coronarianas, a mortalidade caiu aproximadamente 50%. Isto ocorreu em função do controle das arritmias associadas à síndrome isquêmica. A partir da década de 80, houve confirmações demonstradas experimentalmente, que indicavam os benefícios da recanalização da artéria coronária, basicamente com o uso dos fibrinolíticos e dos novos processos de intervenção percutânea. Com essa abordagem, a incidência de óbitos em pacientes com IAM atingiu cerca de 6% a 10%. Apesar disso, o IAM continua sendo uma das principais causas de morte nos países do mundo ocidental.

Desde o final dos anos 60, sabe-se que a maioria dos óbitos ocorre nas primeiras horas de manifestação da doença, sendo 40% a 65% na primeira hora do início dos sintomas e aproximadamente 80% nas primeiras 24 horas (KANNEL, 1987; MYERBURG; CASTELLANOS, 2001).

A utilização de medicações no controle clínico das síndromes coronarianas agudas é de primordial importância, uma vez que reduzem o tamanho não apenas da área em sofrimento isquêmico, como também da área de necrose.

Dentre essas medicações, estudos como o ISIS-2 (*Second International Study of Infarct Survival*), demonstrou que o ácido acetil salicílico, isoladamente, reduz a mortalidade em 20%. A associação com a estreptoquinase promove um decréscimo de 42% na mortalidade (BOERSMA *et al.*, 1996).

Denomina-se retardo pré-hospitalar, o intervalo entre o início dos sintomas de isquemia miocárdica até a chegada ao hospital. É um dos determinantes do tamanho do infarto e, conseqüentemente, da mortalidade pré e intra-hospitalar. Esse período varia entre 3 a 4h sendo que, apenas 20% dos pacientes com IAM chegam à sala de emergência após 2h do início dos sintomas. Portanto, a utilização pré-hospitalar da terapêutica fibrinolítica, visa a dissolução química precoce do trombo coronariano com objetivo de melhorar o prognóstico desses pacientes (GIBSON, 2001; PIMENTA *et al.*, 1992; BASSAN, 1994).

A terapêutica fibrinolítica pré-hospitalar baseia-se no conceito de que ao se abreviar o tempo de isquemia miocárdica aguda, se reduz o tamanho do infarto do músculo cardíaco (REIMER *et al.*, 1977), resultando na redução da mortalidade – não só hospitalar como pré-hospitalar – e das complicações imediatas e tardias, notadamente as decorrentes da disfunção contrátil ventricular. Diversos ensaios clínicos demonstraram que, quanto mais precocemente é administrada a terapêutica fibrinolítica, menores são a mortalidade tanto imediata como tardia e o grau de disfunção ventricular (GIBSON, 2001; KEREIAKES *et al.*, 1990, 1992; GURWITZ *et al.*, 1997).

Uma metanálise dos principais estudos comparando a trombólise pré e intra-hospitalar apresentou resultados significativamente favoráveis ao uso terapia pré-hospitalar. Observou-se uma redução do tempo para uso do fibrinolítico em uma hora, e uma queda de 17% na mortalidade (MORRISON *et al.*, 2000).

Por outro lado, apesar da importância da abordagem precoce no IAM, a utilização de fármacos, na fase pré-hospitalar, como aspirina, clopidogrel, heparina, betabloqueadores, inibidores da enzima conversora de angiotensina e estatinas, não apresenta evidências favoráveis de seu impacto sobre a mortalidade.

Quando comparamos os métodos de recanalização da coronária implicada no infarto, há evidências favoráveis à angioplastia primária em relação à reperfusão química no tratamento intra-hospitalar (SCHOMIG *et al.*, 2000).

Quanto à evolução do IAM, dados do estudo GISSI, demonstraram que um dos principais preditores de mortalidade pós IAM foi a reduzida fração de ejeção ventricular esquerda. Este dado ecocardiográfico é um dos parâmetros da função ventricular que varia de acordo com o grau de comprometimento miocárdico induzido pelo evento agudo (VOLPI *et al.*, 1993).

Apesar dos inúmeros ensaios clínicos com objetivo de abreviar a isquemia e, por conseguinte, limitar a extensão da lesão, a reperfusão precoce não assegura a manutenção da função ventricular. A disfunção miocárdica pós-isquêmica que persiste após a reperfusão, isto é, após o restabelecimento do fluxo coronariano, apesar da ausência de dano irreversível, é denominada de aturdimento ou atordoamento cardíaco. Tanto a função sistólica quanto a função diastólica estão deprimidas nessa situação decorrente do desarranjo global das propriedades mecânicas do coração.

Desde a década passada, vários relatos na literatura descreveram a ocorrência de hibernação miocárdica em diversos contextos clínicos e de suas potenciais implicações terapêuticas. Vários investigadores, na década de 1970, publicaram estudos que evidenciavam que diversos métodos fisiológicos e farmacológicos, bem como a revascularização cirúrgica, eram capazes de reverter a discinesia crônica provocada pelos processos isquêmicos. Um estudo em espécimes de miocárdio retirado e examinado histopatologicamente mostrou o potencial de reversibilidade da discinesia, mediante estimulação farmacológica com nitroglicerina (CHATTERJEE *et al.*, 1973; HELFANT *et al.*, 1974; BODENHEIMER *et al.*, 1976; POPIO *et al.*, 1977; HORN *et al.*, 1974; KIMCHI *et al.*, 1985).

Sabe-se que a disfunção no miocárdio aturdido após um episódio isquêmico tem etiologia multifatorial. Vários mecanismos têm sido propostos como possíveis causas dessa alteração, dentre eles a inadequada produção e utilização de fosfatos de alta energia, a insuficiente perfusão miocárdica, as alterações no metabolismo e na homeostase do cálcio e a lesão mediada por radicais livres (RL) de oxigênio.

Também, outros estudos têm sugerido que o miocárdio aturdido possa ocorrer em função de denervação simpática funcional, anormalidades no processo excitação/contração, perda da atividade de creatino-quinase miofibrilar e dano à matriz do colágeno extracelular (BOLLI, 1990; KUSUOKA, 1992).

Atualmente, a lesão mediada por radicais livres é alvo de diversos estudos, uma vez que os outros mecanismos de lesão por reperfusão, não se confirmaram cientificamente.

Sabemos que, em cirurgia cardíaca, a utilização da circulação extracorpórea, provoca isquemia sistêmica global, culminando por exacerbar a liberação de radicais livres. Além disso, algumas técnicas transoperatórias adotam a isquemia e reperfusão como método de proteção miocárdica, seja associado aos diversos tipos de soluções cardioplégicas ou apenas sob hipotermia leve.

A formação dos radicais livres pode comprometer diversos elementos celulares, causando desnaturação protéica, quebra da cadeia de DNA, inativação enzimática e peroxidação lipídica (VALKO *et al.*, 2005).

Existem alguns métodos de mensuração dos radicais livres, dentre eles, destaca-se a detecção das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (PERCÁRIO *et al.*, 1994), que tem por objetivo detectar a peroxidação lipídica da membrana celular. Esse método, assim como os outros, não abrange a detecção dos radicais livres em sua totalidade, e dessa forma a manutenção de seus níveis considerados normais não significa que o estresse não ocorreu. Por outro lado, a elevação do mesmo, é uma evidência inquestionável de sua ocorrência e das potenciais implicações bioquímicas. Podemos dizer que o TBARS é uma janela no universo dos radicais livres.

Alguns íons metálicos como ferro, cobre e zinco são considerados importantes elementos no processo de oxirredução, uma vez que podem participar dessas reações como doadores ou receptores de elétrons. O cobre participa como catalisador da reação de Fenton, produzindo radical hidroxila ($\text{OH}^\bullet$). Além disso, autores descrevem a elevação dos níveis de cobre após a injúria de reperfusão (POWELL *et al.*, 1991).

Em contrapartida, o processo isquemia-reperfusão, com conseqüente liberação de radicais livres, necessita de um mecanismo oxirredutor, cujo objetivo é diminuir a elevada liberação das espécies reativas do metabolismo do oxigênio.

O zinco, como elemento traço, tem papel fundamental nesse sistema oxirredutor, uma vez que faz parte da composição de diversas enzimas sistêmicas. Atua na estabilização das membranas celulares, prevenindo a desnaturação das proteínas, lipoperoxidação e proteção à célula miocárdica (BRAY; BETTGER, 1990; POWELL *et al.*, 1994; POWELL, 2000).

Diante disso, o estudo cuidadoso do processo isquemia-reperfusão é de primordial importância, uma vez que, as técnicas adotadas durante a cirurgia de revascularização miocárdica são peculiares na indução desse processo, além de que, o pinçamento aórtico intermitente também pode contribuir com esse mecanismo. Dessa forma, na literatura atual, há escassez de investigações sobre o comportamento do estresse oxidativo e dos elementos cobre e zinco durante a cirurgia de revascularização miocárdica com hipotermia leve e pinçamento aórtico intermitente.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A cirurgia cardíaca, um breve histórico

A ciência “cardiologia” tem suas raízes históricas que datam de manuscritos do Antigo Egito que descreviam sua anatomia e fisiologia. Por centenas de anos entre vários povos, o misticismo envolvido por este órgão, não permitiu a evolução dessa ciência e levou sua utilização em sacrifícios pagãos. Durante a Idade Média também não houve evolução expressiva, uma vez que os estudos eram observacionais (PRATES, 1999).

A primeira intervenção cirúrgica, com sucesso, sobre o coração é atribuída a Ludwing Rehn, que em 1896, suturou um ferimento cardíaco de um jovem com uma laceração na face anterior do coração, que foi corrigida com três pontos separados de seda. Tentativas frustradas de correção de ferimentos semelhantes haviam sido relatadas no ano de 1890 por Ansel Cappelen, na Noruega, e por Guido Farina, em Roma. Procedimentos não diretos sobre o coração, mas sobre a cavidade pericárdica e sua drenagem, foram descritos em 1810 por Francisco Romero, na Espanha, e Baron Jean Dominique Larrey, na França. Em 1896, Stephen Paget, em seu livro *Surgery of the Chest*, escreveu: “A cirurgia do coração provavelmente atingiu os limites impostos pela natureza a todas as operações: nenhum método novo e nenhuma nova descoberta pode vencer as dificuldades que acompanham um ferimento no coração. É certo que suturas destes ferimentos tenham sido vagamente propostas como procedimentos possíveis e que eles têm sido realizados em animais, mas eu penso que isto jamais tenha sido realizado na prática” (PRATES, 1999).

Após inúmeros procedimentos com objetivo de correções de cardiopatias, como a persistência do canal arterial (1939, Robert E. Gross e John P. Hubbard), a tetralogia de Fallot (1944, Alfred Blalock), e da abordagem intracardíaca das estenoses mitral com valvotomia e comissurotomia em 1923 e 1925, respectivamente, o grande salto para o acesso intracardíaco, se deu com o advento,

após anos de pesquisas, da máquina coração-pulmão artificial, onde John Gibbon, em 1953, corrigiu com sucesso uma comunicação interatrial. Infelizmente o mesmo abandonou a cirurgia cardíaca após outras cinco cirurgias sem sucesso (PRATES, 1999).

A circulação extracorpórea possibilitou a abordagem das valvopatias e doenças cardíacas mais complexas, e finalmente em 1967, Favaloro abordou cirurgicamente as obstruções coronarianas com confecção de pontes de safena (PRATES, 1999).

2.2 A circulação extracorpórea

A circulação extracorpórea consiste em um complexo conjunto de cânulas, circuitos, oxigenadores, permutadores de calor e filtros que substitui temporariamente a circulação pulmonar e cardíaca, isolando os mesmos, onde o sangue é impulsionado por uma bomba mecânica artificial (BRAILE; GODOY, 1996; GOMES *et al.*, 2005). Uma das forças mais importantes na rotura do equilíbrio hormonal é o fluxo não pulsátil (SWAIN, 1982).

A redução da viscosidade do sangue produzida pela hemodiluição e o fluxo contínuo não pulsátil produzem hipotensão arterial, que estimula a liberação de catecolaminas, adrenalina e noradrenalina, com consequente vasoconstrição arteriolar. O fluxo de perfusão, não fisiológico, e a vasoconstrição, faz com que alguns leitos vasculares sejam mal perfundidos, sofrendo hipóxia, e isquemia (LITWAK; GIANNELLI, 1982; SETHIA; WHEATLEY, 1986).

Durante a circulação extracorpórea, a distribuição dos fluxos de sangue se altera e é diferente da distribuição normal. Os órgãos mais nobres como o coração e o cérebro têm fluxos de sangue adequados, enquanto os rins, o fígado e, principalmente, as grandes massas musculares podem receber fluxos de sangue insuficientes, acentuando a isquemia sistêmica (SWAIN, 1982; REED; STAFFORD, 1985).

A hipótese de que a disfunção endotelial, durante a circulação extracorpórea, seja a causa do aumento do tono vascular e vasoespasmo após isquemia e reperfusão encontra-se representada na Figura 1 (EVORA *et al.*, 1993).



Figura 1 – Esquema representando a disfunção endotelial após isquemia reperfusão. Adaptado Evora *et al.* Arquivos Brasileiros de Cardiologia. EDRF – endothelium-derived relaxing factor.

2.3 Isquemia e reperfusão

A lesão de reperfusão é um termo usado para descrever as alterações, funcionais e estruturais, que ocorrem após o restabelecimento do fluxo sanguíneo após um período de isquemia. Os distúrbios metabólicos durante isquemia ou

hipóxia tissular são bem estabelecidos, porém evidências clínicas e experimentais demonstram que os principais eventos que levam a disfunções celular e tecidual relacionam-se com a reperfusão.

Embora o benefício da reperfusão precoce seja evidente, a reintrodução do oxigênio em um meio isquêmico inicia uma corrente complexa de eventos levando a lesões tissulares adicionais (KU, 1982; BRAUNWALD, 1985).

Qualquer que seja a origem da isquemia, as conseqüências são sempre as mesmas: falta de oxigênio e substrato ao miocárdio para manutenção do seu metabolismo.

A disfunção miocárdica pós-isquêmica que persiste após a reperfusão, isto é, após o restabelecimento do fluxo coronariano, apesar da ausência de dano irreversível, é denominada de aturdimento ou atordoamento cardíaco. Tanto a função sistólica quanto a função diastólica estão deprimidas nessa situação decorrente do desarranjo global das propriedades mecânicas, elétricas, metabólicas e eletrolíticas do coração.

Vários mecanismos têm sido propostos como possíveis causas dessa alteração, dentre eles a inadequada produção e utilização de fosfatos de alta energia, a insuficiente perfusão miocárdica, as alterações no metabolismo e na homeostase do cálcio e finalmente, a lesão mediada por radicais livres (RL) de oxigênio que são objeto de estudo do presente trabalho.

2.4 Radicais livres e espécies reativas do oxigênio

O músculo cardíaco é um tecido aeróbio e, portanto não produz energia suficiente em condições de isquemia e hipóxia.

Durante o metabolismo miocitário normal, a redução completa de uma molécula de oxigênio, na cadeia transportadora de elétrons, requer adição de quatro elétrons. Devido a sua conformação eletrônica, o oxigênio tem tendência de receber um elétron por vez (redução monovalente), culminando na formação de

intermediários reativos do oxigênio – espécies reativas do metabolismo do oxigênio (ERMO), como os radicais superóxido ($O_2^{\cdot-}$), hidroperoxila ($HO_2^{\cdot}$) e hidroxila ($OH^{\cdot}$), e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (COHEN, 1989).

Em condições fisiológicas, aproximadamente 2% do oxigênio consumido pela mitocôndria forma ERMO, durante a redução monovalente na cadeia transportadora de elétrons (MISRA *et al.*, 2009). Nesse caso, em menores concentrações, essas espécies atuam como mensageiros de funções celulares.

Por outro lado, em condições patológicas como infarto, há um grande aumento na formação de ERMO, e esses radicais livres são elementos reativos que podem comprometer inespecificamente qualquer componente celular. Pelo menos dois componentes chaves - as proteínas e os lipídeos - são os alvos das reações envolvendo essas substâncias, com conseqüente desnaturação da proteína, inativação enzimática e peroxidação dos ácidos graxos poliinsaturados que constituem parte das membranas celulares. Além disso, ocorre disfunção do retículo sarcoplasmático e do sarcolema. As conseqüências são a perda da permeabilidade seletiva da membrana e interferências na função de várias organelas celulares, (Figura 2) (GIORDANO, 2005).

Grieve *et al.* (2004), definiram os mecanismos envolvidos na produção das ERMO e seus efeitos sobre o sistema cardiovascular e enfatizaram o maior potencial deletério à membrana celular mediado pelo radical peroxinitrito.

Experimentos *in vivo* sugerem que a síndrome da reperfusão pós-isquemia, em corações de ratos submetidos à sobrecarga de Fe^{2+} , possa estar relacionada à produção de ERMO via reação de Haber-Weiss. Nesta situação, após a reperfusão, ocorre decréscimo da contratilidade miocárdica sem que se observe lesão tissular importante. Foi sugerido que o excesso de Fe^{2+} , catalisando a reação de Haber-Weiss, promove o acúmulo de ERMO, dentre elas o radical $OH^{\cdot}$. O excesso de Fe^{2+} e, conseqüentemente, de $OH^{\cdot}$ estimula a lipoperoxidação de membranas, responsável pela diminuição da contratilidade miocárdica (VAN DER KRAAIJ *et al.*, 1988).

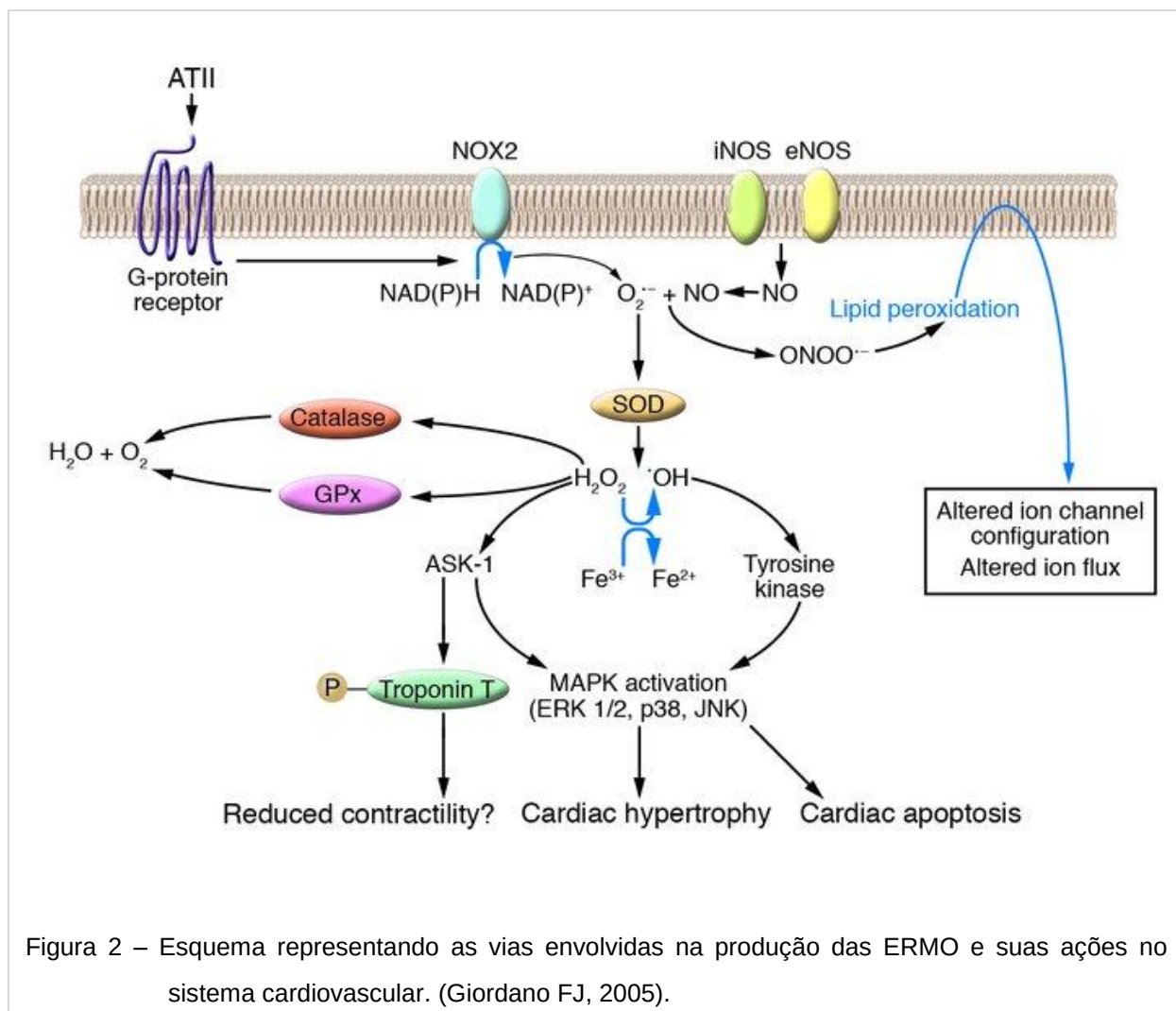


Figura 2 – Esquema representando as vias envolvidas na produção das ERMO e suas ações no sistema cardiovascular. (Giordano FJ, 2005).

As espécies reativas do oxigênio são contribuintes importantes para a lesão de reperfusão (BOLLI, 1991; LUCCHESI, 1994). Após o início da reperfusão, há uma “explosão” respiratória pela entrada de O_2 com duração de vários minutos e produção persistentemente elevada do radical superóxido (HERKERT *et al.*, 2002, VINTEN-JOHANSEN, 2004; DUILIO *et al.*, 2001).

Estudos demonstraram que a geração desses RL é máxima com 3 a 5 minutos de reperfusão e com duração até 3h (KIN *et al.*, 2004; ZHAO Z-Q *et al.*, 2003), o que contribui significativamente para a depressão miocárdica (BOLLI, 1988, 1990; KLONER *et al.*, 1989).

As técnicas de ressonância paramagnética eletrônica reforçam esses achados. Foi demonstrado que para reverter a disfunção pós-isquêmica podem ser

utilizados compostos chamados seqüestradores que emparelha os elétrons isolados (CARVALHO *et al.*, 1991; KLONER *et al.*, 1989; BOLLI, 1988).

Além dos neutrófilos, as mitocôndrias também podem ser fontes geradoras de radicais livres, mas ao mesmo tempo, sofrem danos provocados por sua carga energética. Estudos evidenciam que em mitocôndrias isoladas de miocárdio isquêmico, ocorre aumento da produção de radicais livres e paralelamente diminuição da fosforilação oxidativa; esses efeitos podem ser prevenidos na presença dos seqüestradores (KLONER *et al.*, 1989; BOLLI, 1988; THOMPSON; HESS, 1986).

A disfunção mitocondrial pode ser responsável, ao menos em parte, pela diminuição da produção de energia, a qual é necessária à manutenção da contratilidade miocárdica normal.

Em preparações experimentais de retículo sarcoplasmático isolado e do sarcolema foi observada diminuição da captação do cálcio e da atividade da adenosinatrifosfatase após a exposição aos RL, evidenciando que a disfunção dessas estruturas pode ser um dos importantes mecanismos pelos quais os radicais livres alteram a função do miocárdio isquêmico (REEVES *et al.*, 1986).

Nesses casos, a função do retículo sarcoplasmático foi preservada quando se utilizou o tratamento com seqüestradores de radicais livres (THOMPSON; HESS, 1986; ROWE *et al.*, 1983).

2.5 A lipoperoxidação como Indicador pró-oxidante

O dano aos lipídios induz à lipoperoxidação. Um dos mais conhecidos produtos da peroxidação lipídica é o malondialdeído (MDA) (ALEXANDROVA; BOCHEV, 2005; CHERUBINI *et al.*, 2005), que é o produto final da degradação não enzimática dos ácidos graxos poliinsaturados. Altos níveis de MDA elevam a formação de lipoperóxidos e indicam aumento da lipoperoxidação (KASHYAP *et al.*, 2005).

As membranas são compostas principalmente de fosfolipídios e proteínas. As alterações nos lipídios das membranas estão entre os principais eventos ocorridos durante a isquemia e reperfusão, perdendo assim a seletividade em trocas iônicas, liberação de enzimas hidrolíticas, formação de produtos citotóxicos, finalizando com a morte celular (LAZZARINO *et al.*, 1994; PARK; LUCCHESI, 1999; MAREZIN *et al.*, 2003).

No campo da cardiologia Ragab *et al.* (2005), demonstraram a correlação positiva entre a produção de MDA, pela dosagem das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), com níveis elevados de marcadores inflamatórios em pacientes acometidos de infarto agudo do miocárdio e angina instável, quando comparados ao grupo controle. Porém o mesmo trabalho sugere que a presença de dislipidemia e tabagismo pode elevar o estresse oxidativo e conseqüentemente os marcadores inflamatórios.

Vários trabalhos vêm utilizando a técnica de dosagem do MDA como marcador do estresse oxidativo em cardiopatias isquêmicas nas suas diversas apresentações, porém, as mesmas associam-se a inúmeras comorbidades como hipertensão, diabetes *mellitus*, alterações da função renal e dislipidemias, onde a peroxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), poderiam ser a causa dos níveis de MDA elevados (TOSUKHOWONG *et al.*, 2003). Alguns trabalhos demonstraram a diminuição do estresse oxidativo quando os pacientes faziam uso de atorvastatina, mesmo em situações em que os níveis prévios à instituição do tratamento estavam dentro dos limites da normalidade (THOMAS *et al.*, 2006; SANGUIGNI *et al.*, 2002).

Akila *et al.* (2007) demonstraram que, pacientes acometidos de 3 vasos, não infartados, e com função ventricular normal, quando submetidos a cirurgia de revascularização miocárdica, os níveis de TBARS eram mais elevados quando a cirurgia era realizada com circulação extracorpórea (on pump) em relação aos operados em “off pump”. Esse mesmo trabalho demonstrou também a elevação dos níveis de glutathione redutase, que também é indicador de estresse oxidativo e relacionado à diminuição dos níveis de catalase, indicador da ativação dos sistemas antioxidantes.

Outro trabalho não utilizando a dosagem do TBARS, demonstrou a elevação do estresse oxidativo em cirurgias de revascularização miocárdica com circulação extracorpórea (BIGLIOLI *et al.*, 2003).

Em trabalho avaliando o MDA e disfunção renal em cirurgia com e sem circulação extracorpórea, evidenciou que este marcador tem correlação positiva para a disfunção renal nos pacientes do grupo cirurgia com circulação extracorpórea (GERRITSENA *et al.*, 2001).

Um trabalho comparando as dosagens de TBARS em pacientes submetidos à revascularização miocárdica e trocas valvares, concluiu que naquele grupo, o estresse oxidativo está muito mais elevado, refletindo a maior gravidade desses doentes (OCHOA *et al.*, 2003).

Com relação à mensuração do estresse oxidativo diretamente do fluxo sanguíneo coronariano, em um trabalho com amostra comparativa pequena entre pacientes com angina instável e estável, incluindo na amostra pacientes renais crônicos dialíticos, não se evidenciou a elevação de endotelina entre os dois grupos, quando os mesmos foram submetidos à intervenção coronariana percutânea (STEWART *et al.*, 1991).

Portanto, a presente revisão literária, mostra que não existe material suficiente para a comparação de TBARS mensurados simultaneamente na circulação sistêmica e no seio coronário em pacientes submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica com pinçamento aórtico intermitente.

2.6. O cobre e as espécies reativas do oxigênio

O cobre é um elemento traço do organismo humano que participa de reações químicas e possui grande instabilidade, uma vez que se apresenta em três estados de oxidação, Cu, Cu²⁺ e Cu³⁺.

A formação do radical hidroxila (OH•) a partir do peróxido de hidrogênio ocorre na presença de metais de transição como cobre e ferro. Esse processo

denomina-se reação de Fenton e Haber- Weiss (FENTON, 1894 apud KEHRER, 2000, p. 44; HABER-WEISS, 1935 apud KEHRER, 2000, p.44), onde o Cu é um catalisador dessa reação.

Aproximadamente 90% do cobre sistêmico é transportado pela ceruloplasmina. Apresenta característica de ser uma proteína de reação da fase aguda, alterando seus níveis plasmáticos em situações como infarto e inflamações (ADELSTEIN, COOMBS, VALEE, 1956 apud in FOX *et al.*, 2000).

Em cirurgia cardiovascular, relacionando cobre e circulação extracorpórea, Zamparelli *et al.* (1986), observaram que a concentração de cobre plasmático diminuiu durante a circulação extracorpórea, relacionando o processo com o trauma cirúrgico e hemodiluição.

Em contrapartida, outro estudo demonstrou que as concentrações de cobre aumentaram após o início da CEC, e tiveram uma queda após 40 minutos de circulação extracorpórea (FUHRER *et al.*, 1986).

No estudo de Dementeva *et al.* (1983), concluíram que as concentrações de cobre diminuíram durante a CEC, mesmo após a normalização do hematócrito, indicando um consumo do elemento. Relataram também que nos pacientes que desenvolveram insuficiência cardíaca após a cirurgia, os níveis também foram menores.

Em estudo conduzido por Al-Bader *et al.* (1998), os autores descreveram que o cobre apresentou aumento durante a CEC e atingiram seus níveis normais após alguns dias no pós-operatório, atribuindo seu consumo por sua atividade como varredora de radical livre por meio da enzima superóxido dismutase.

Finalmente, Consolo (2008), em sua tese, estabeleceu que, as concentrações de cobre durante a CEC, em pacientes pediátricos, foram menores que as iniciais, mesmo após ter feito a correção para a hemodiluição; dessa forma sugere-se que, isto seja resultado dos processos inflamatórios induzidos pela circulação extracorpórea.

Dessa forma, podemos concluir que o desempenho do cobre durante os processos de isquemia-reperfusão, ainda é bastante controverso. Portanto, torna-se

necessária uma investigação minuciosa do comportamento desse metal e, se possível, a interpretação de sua forma de atuação frente a esses mecanismos patofisiológicos, uma vez que o mesmo pode se apresentar tanto como agente pró-oxidante, em sua forma livre, como também antioxidante, quando ligado às enzimas.

2.7 Defesas antioxidantes

Em sistemas aeróbicos é essencial o equilíbrio entre agentes óxido-redutores (como as ERMO) e o sistema de defesa antioxidante.

O sistema de eliminação dos RL, chamados de varredores ou seqüestradores, atua neutralizando ou impedindo sua transformação em produtos mais tóxicos para a célula. Esse sistema de defesa é composto pelas enzimas glutathione peroxidase e cobre-zinco-superóxido dismutase (SOD), entre outras.

A superóxido dismutase pertence a uma família de enzimas com diferentes grupos protéicos em sua composição. A importância da SOD pode ser demonstrada pelo fato de ser a enzima mais abundante do organismo, e também a quinta proteína mais abundante no ser humano. No processo evolutivo é a mais antiga.

Nos sistemas eucariontes existem duas formas de SOD. A forma SOD-cobre-zinco (SOD1) que está presente principalmente no citosol, enquanto que a SOD-manganês está localizada primariamente na mitocôndria. Esta enzima, evidentemente, tem papel antioxidante, já que catalisa a dismutação do radical superóxido em H_2O_2 e O_2 singleto, na presença do próton H^+ (ROSS; MOLDEUS, 1991; ACHARYA *et al.*, 1991).

Dessa forma, as reações envolvendo RL, prejudiciais *in vivo*, são evitadas ou modificadas pela ação de agentes inibidores que são chamados de antioxidantes ou “armadilhas” de radicais livres.

2.8 O papel do zinco

O zinco (Zn) foi reconhecido como um elemento distinto em 1509. Evidências de sua essencialidade foram demonstradas em plantas em 1869 e em animais em 1934. Em virtude da sua ampla concentração nos alimentos, a deficiência de zinco foi considerada improvável até 1955, quando foi demonstrada que a paraceratose suína era uma doença causada por deficiência desse metal. O significado clínico da deficiência de Zn no homem tornou-se preocupante para saúde pública após 1961, quando foi observado que o hipogonadismo e o nanismo endêmicos no Irã eram devidos à deficiência desse elemento e não do iodo (SHILS *et al.*, 2003).

Uma das principais funções do zinco é sua atuação enzimática, seja na estrutura da enzima ou em sua ação reguladora ou catalítica. Dentre as aproximadamente 300 enzimas das quais o zinco faz parte estão a anidrase carbônica, fosfatase alcalina, carboxipeptidases, álcool desidrogenase, superóxido dismutase, proteína C quinase, ácido ribonucléico polimerase e transcriptase reversa (SANDSTEAD, 1994; MCCALL *et al.*, 2000).

O zinco forma um complexo funcional característico, esses complexos têm coordenação tetraédrica típica, com o Zn no centro do tetraedro formado por 4 cisteínas ou 3 cisteínas e 1 histidina ou 2 cisteínas e 2 histidinas. Durante os processos de proliferação celular a síntese protéica necessita da informação estrutural para proporcionar a colocação adequada dos aminoácidos na cadeia peptídica. Esse é o ponto central do controle da atividade enzimática e também dos processos de proliferação e crescimento celular (TURNLUND *et al.*, 1996).

O zinco está envolvido na estabilização de membranas estruturais e na proteção celular, prevenindo a oxidação de lipídeos e de proteínas. Difere dos outros metais de transição, pois contém a camada eletrônica "d" completa e assim não participa de reações redox, mas age como ácido de Lewis para aceitar um par de elétrons, fazendo com que seja um íon estável.

Os mecanismos pelos quais o zinco atua como antioxidante incluem a regulação da expressão da metalotioneína, a atividade da superóxido dismutase e a

proteção de grupos sulfidrilas das proteínas das membranas celulares, por antagonismo com os metais pró-oxidantes como o cobre e ferro (POWELL, 2000; MARET, 2000).

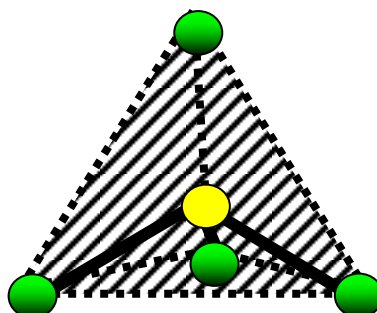


Figura 3 – Coordenação tetraédrica com o átomo de zinco na posição central.

O zinco também compõe a enzima superóxido dismutase extracelular (EC-SOD), presente no plasma, na linfa e no líquido sinovial. A atividade da EC-SOD está reduzida nas deficiências de zinco (MARET, 2000; HAMBIDGE, 2003).

O zinco pode atuar nas reações de peroxidação lipídica, deslocando o cobre e o ferro da ligação lipídica (CHEVION, 1988; STADTMAN; OLIVER 1991).

Foi demonstrado em estudo realizado em ratos, onde foi examinado o mecanismo potencial da cardioproteção mediado pelo zinco que durante a perfusão do coração isolado com solução contendo zinco a concentração de cobre e a formação do radical $\text{OH}^{\bullet}$ diminui de modo significativo (POWELL *et al.*, 1994). Um estudo constatou a redução do cobre miocárdico, e demonstrou um decréscimo da oxidação da proteína, devido ao deslocamento do cobre para fora da célula, e conseqüente redução da sua disponibilidade para a formação de radicais $\text{OH}^{\bullet}$ (POWELL *et al.*, 1999). Essas observações provêm bases para a teoria que o zinco atua como protetor cardíaco devido à inibição do estresse oxidativo mediado por metais, atuando de forma a inibir a apoptose.

Em cirurgia cardíaca, Zamparelli *et al.* (1986) demonstraram a diminuição do zinco durante a CEC, atribuindo a atuação do elemento na resposta do organismo frente ao traumatismo cirúrgico.

Outro trabalho demonstrou a elevação desse elemento no início do procedimento cirúrgico, em função da mobilização após a injúria tecidual, porém os níveis do elemento decaíram, indicando seu consumo nos processos metabólicos (FRASER *et al.*, 1989). Resultado semelhante foi encontrado por Al-Bader *et al.*, (1998), que observaram uma queda de 50% dos valores de zinco após 30 minutos de circulação extracorpórea.

Em contrapartida, Consolo (2008) em sua tese, publicou que as concentrações de zinco não se alteram significativamente durante a circulação extracorpórea, e ainda ressaltou que o cobre era o maior envolvido nos processos metabólicos decorrentes da CEC.

Assim, durante a cirurgia cardíaca e especialmente no caso de revascularização miocárdica, esta última apresenta características *sui generis*, pois os processos de isquemia e reperfusão encontram-se no seu auge, uma vez que a circulação extracorpórea e a interrupção do fluxo sanguíneo coronariano exacerbam os mecanismos oxidorredutores. Dessa forma, com base na presente revisão literária, consideramos que as mensurações dos elementos cobre, zinco e a avaliação do estresse oxidativo, podem nos brindar, uma expressão fidedigna da dinâmica dos processos envolvendo a isquemia-reperfusão.

Portanto, diante do exposto, o presente trabalho tem um objetivo lógico de investigar o comportamento do zinco e cobre e, igualmente, das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico referente ao processo isquemia-reperfusão miocárdica que acontece nos pacientes submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica com circulação extracorpórea.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a dinâmica das concentrações de cobre, zinco e das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico durante a cirurgia de revascularização miocárdica com auxílio de circulação extracorpórea e pinçamento aórtico intermitente.

3.2 Objetivos específicos

Determinar as concentrações de cobre, zinco e das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico durante a circulação extracorpórea e após a reperfusão miocárdica.

Comparar os níveis obtidos para cobre e zinco antes da intervenção cirúrgica com os dados da população geral.

Avaliar a dinâmica das dosagens de cobre, zinco e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico durante o procedimento cirúrgico.

Comparar a dinâmica dos elementos estudados entre as dosagens provenientes da circulação sistêmica e do seio coronário.

Interpretar o papel dos íons metálicos cobre e zinco nos mecanismos patofisiológicos do processo de isquemia-reperfusão.

4 CASUÍSTICA E MÉTODO

O protocolo de estudo foi aprovado pela Comissão de Ética Médica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e o termo de consentimento livre e esclarecido foi assinado por cada paciente participante do trabalho.

Foi um estudo prospectivo, realizado no serviço de Cirurgia Cardiovascular do Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

4.1 População

Durante o ano de 2011, foram incluídos no estudo dezesseis pacientes, sendo 5 do gênero feminino e 11 do gênero masculino, submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica com circulação extracorpórea para confecção de 2 ou mais enxertos.

Não foram incluídos pacientes em ritmo cardíaco de fibrilação atrial, portadores de doenças do colágeno, portadores de miocardiopatia dilatada ou portadores de lesões valvares associadas, pacientes submetidos a cirurgias de emergência, ou pacientes com utilização de qualquer medicação supressora de radicais livres, imunomoduladoras, corticosteróides ou que contenham cobre ou zinco.

4.2 Circulação extracorpórea

Após esternotomia mediana longitudinal padrão, a circulação extracorpórea (CEC) foi instalada cânula em aorta ascendente e drenagem venosa por canulação venosa dupla em apêndice atrial direito e parede livre de átrio direito. Uma cânula acessória de pequeno calibre foi introduzida pelo apêndice atrial direito e inserida em seio coronário e seu débito orientado para o reservatório venoso. Dessa forma, o

retorno venoso da circulação sistêmica e da circulação coronariana se tornou independente, no intuito de coletar amostras seletivas (Figura 4). A perfusão foi realizada em hipotermia leve (32°C) e hemodiluição. A técnica empregada para a revascularização foi de pinçamento aórtico intermitente, conforme já estabelecido na literatura internacional e adotado como rotina pelo serviço de Cirurgia Cardiovascular do Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Foi utilizada bomba de rolete na linha arterial e oxigenadores de membranas de fibras ocas com filtro de linha arterial (Braile Biomédica® - São José do Rio Preto - SP) e perfusato calculado conforme o hematócrito de perfusão – 20mg/dl.

O equilíbrio hidroeletrolítico e metabólico foi mantido de acordo com as necessidades metabólicas do paciente durante o procedimento padrão. A técnica de perfusão adotada foi de pH alfa stat.

A anestesia foi realizada conforme protocolos estabelecidos, porém a utilização de possíveis supressores de radicais livres como ácido ascórbico e n-acetil-cisteína não foram utilizados.

4.3 Amostras de sangue e análise laboratorial

Os momentos de coleta foram:

A1 – sangue coletado no ato da indução anestésica – amostra da artéria radial^{*)}.

A2 – sangue coletado 4 minutos após a finalização da circulação extracorpórea – amostra da artéria radial^{**)}.

B1 – sangue coletado da linha venosa das cavas após 4 minutos do primeiro despinçamento aórtico^{***)}.

^{*)} A artéria foi mantida cateterizada para monitorização hemodinâmica.

^{**)} CLERMONT et al., 2002.

^{***)} A coleta de sangue das veias cavas ocorreu antes de sua mistura com o sangue já presente no reservatório venoso.

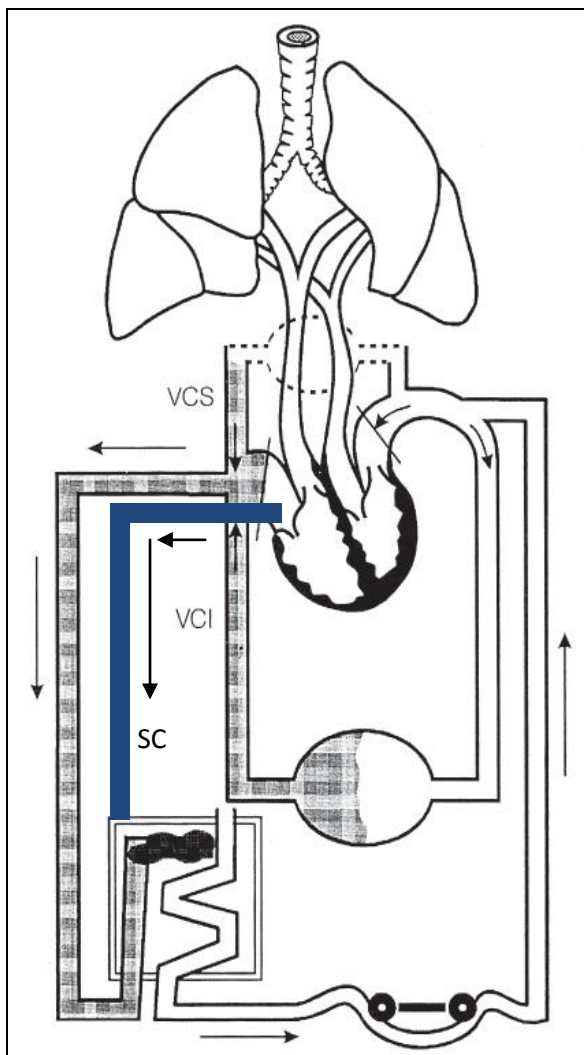


Figura 4 – Esquema ilustrando a independência do retorno venoso sistêmico e do seio coronário para coleta de amostras seletivas. VCI – veia cava inferior, VCS – veia cava superior, SC – seio coronário. Adaptado de Souza MHL; Elias DO. Fundamentos da Circulação Extracorpórea. Segunda edição. Rio de Janeiro: Editora Alfa Rio; 2006. p. 35.

B2 – sangue coletado da linha venosa das cavas após 4 minutos do segundo despinçamento aórtico.

SC1 – sangue coletado do retorno venoso do seio coronário após 4 minutos do primeiro despinçamento aórtico;

SC2 – sangue coletado do retorno venoso do seio coronário após 4 minutos do segundo despinçamento aórtico;

Amostras de sangue foram coletadas em seringas de polipropileno e imediatamente transferidas para tubos a vácuo livres de metais (BD Vacutainer

Systems-Becton, Dickinson & Co). O soro foi separado por centrifugação (3,000×g, 15 min), e transferido a tubos desmineralizados Eppendorf, e armazenados a -18°C para posterior determinação dos elementos cobre, zinco e malondialdeído. Todos materiais, plásticos ou vidros foram imersos por 24 horas em solução de Extran 5% (Merck), lavados e imersos por pelo menos 24 h, em solução a 10% de ácido nítrico superpuro (Merck) para descontaminação de resíduos metálicos. Em seguida, foram lavadas com água ultra-pura (Milli-Q, Millipore, Bedford, E.U.A.) e secos a 40°C.

Para as determinações de cobre e zinco foram construídas curvas de calibração contendo três pontos correspondentes as concentrações (mg/L) de 0,5; 1,0 e 2,0 para o cobre e 0,25; 1,0 e 2,0 para o zinco. As concentrações de zinco e cobre no soro foram determinadas pelo método de absorção atômica, espectrometria de chama utilizando o equipamento Perkin-Elmer Analyst 100. Alíquotas de cada amostra de soro foram diluídas com água ultra-pura com relação 1:5 para o zinco e 1:2 para o cobre, logo a solução foi aspirada diretamente na chama por meio de capilar.

Os valores obtidos para as concentrações de cobre e zinco foram corrigidas para a hemodiluição adotada durante a circulação extracorpórea. Utilizou-se para isso a seguinte fórmula:

As concentrações plasmáticas das substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram medidas pelo método espectrofotométrico. O teste usado para avaliar o dano celular pela lipoperoxidação é baseado no trabalho de Percário *et al.*, 2004. O volume de 1 ml do TBA (10 nM/l) foi adicionado a 0,5 ml da amostra. Foi preparada uma solução padrão constituída de 1 ml do TBA (10 nM/l) e 0,5 ml de MDA (20 nM/l). Uma terceira solução contendo 1 ml de TBA (10nM/l) e 0,5 ml de água, serviu como branco da leitura do espectrofotômetro. Essas soluções foram aquecidas em banho Maria a 94°C por 1 hora e posteriormente resfriadas em água corrente por 5 minutos. Para bloquear a reação foi adicionado 4 ml de álcool n-butílico em cada tubo. Os tubos foram agitados em Vortex para total extração do MDA para a fase orgânica do sistema, logo centrifugados a 2500 rpm por 10

minutos. Nesse momento, observa-se a separação das fases, e 3 ml da fase orgânica (superficial) foi aspirada para leitura no espectrofotômetro.

A leitura foi realizada em 532 nm. O valor final de MDA em ng/dl, é obtido pelo emprego da seguinte fórmula:

$$\text{MDA} = A \text{ média} \times F, \text{ onde } A \text{ média} = (A1 + A2)/2.$$

$$F = 4406,1 / A \text{ padrão MDA, onde } A \text{ significa absorbância}$$

4.4 Análise estatística

As comparações de dosagens de zinco, cobre e TBARS nos tempos de pinçamento aórtico, na artéria radial, no retorno venoso e seio coronário foram feitas segundo teste t-Student para dados emparelhados em nível de 95% de confiabilidade.

Os testes envolvendo correlação entre variáveis foram realizados via coeficiente de correlação linear de Pearson e seu respectivo teste t-Student.

Foi testada a normalidade dos dados, via critério de Kolmogorov-Smirnov também ao nível de 95% de confiança.

5. RESULTADOS

Neste estudo foram avaliados 16 pacientes sendo 5 do gênero feminino (31,2%), e 11 do gênero masculino (68,8%), com idade média de $60 \pm 8,6$ anos (média $\pm$ SD).

A fração de ejeção ventricular prévia a cirurgia foi de $0,51 \pm 0,097$ SD. O tempo total de circulação extracorpórea foi de $68,1 \pm 23,2$ min. Os tempos médios do 1º e 2º pinçamentos aórticos foram de $9,9 \pm 2,0$ min e $9,9 \pm 2,5$ min, respectivamente. Na Tabela 1 estão apresentados, resumidamente, os parâmetros mencionados.

Tabela 2 – Estatística descritiva das variáveis fração de ejeção (FE), tempo do 1º e 2º pinçamento aórtico (PA) e tempo total de CEC

Parâmetro	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
FE (%)	51,6	9,7	38,0	70,0
PA, 1º (min)	9,9	2,0	7,0	13,0
PA, 2º (min)	9,9	2,5	7,0	15,0
Tempo de CEC (min)	68,1	23,2	40,0	120,0

Na Tabela 2 estão apresentados os dados relativos aos parâmetros metabólicos dos pacientes antes do início da circulação extracorpórea e ao final da mesma, com as dosagens da concentração de PaO_2 (mmHg), glicemia (mg/dl), cálcio (mg/dl) e magnésio (mg/dl).

Os desvios padrões relativamente altos de alguns parâmetros (glicemia e PaO_2), decorrem das soluções glicosadas infundidas e ventilação mecânica com oxigênio a 100%.

Tabela 2 – Estatística descritiva das variáveis PaO₂, glicemia, cálcio e magnésio iniciais e finais

Parâmetro	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
PaO ₂ inicial	96,6	44,7	62,0	202,0
PaO ₂ final	156,9	34,5	110,0	210,0
Glicemia inicial	129,9	48,9	93,0	277,0
Glicemia final	145,2	50,8	96,0	247,0
Calcio inicial	9,3	0,4	8,8	10,0
Calcio final	8,8	0,7	6,7	10,0
Magnésio inicial	2,0	0,2	1,6	2,5
Magnésio final	1,9	0,4	1,3	3,0

5.1 Correlação linear de Pearson entre fração de ejeção e as TBARS no pré e pós bypass (A1 e A2)

A correlação linear de Pearson entre a fração de ejeção ventricular e a dosagem das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico antes no início da circulação extracorpórea e após o término da mesma (A1 e A2), está apresentada na Tabela 3.

Tabela 3 – Correlação linear de Pearson entre a fração de ejeção dos pacientes e as dosagens de cobre, zinco e TBARS no momento A1 e A2

Momento	A1			A2		
Elemento	Cobre	Zinco	TBARS	Cobre	Zinco	TBARS
Correlação	0.20	0.27	0.12	-0.04	-0.15	0.05
p	0.47	0.34	0.67	0.90	0.60	0.86

Não foi encontrada nenhuma associação linear entre as concentrações das dosagens dos elementos e a fração de ejeção no pré e pós bypass.

5.2 Comparação das dosagens de TBARS entre homens e mulheres nos momentos de coleta

Na Tabela 4 está representada a comparação do estresse oxidativo medido pelas TBARS entre os gêneros masculino e feminino em todos os momentos de coleta da amostra (A1, A2, B1, B2, SC1 e SC2). A análise foi feita pelo teste t-Student para dados independentes.

Tabela 4 – Comparação das dosagens de TBARS (ng/ml) entre homens e mulheres ao longo do procedimento

Local / Momento	Dosagem média de TBARS		p
	Homens(n=11)	Mulheres(n=5)	
A1	298	192	(0.32)
B1	519	426	(0.62)
B2	592	626	(0.89)
SC1	568	436	(0.53)
SC2	687	679	(0.98)
A2	538	373	(0.30)

Não foram observadas diferenças significativas entre os gêneros e as dosagens de TBARS nos diversos momentos de coleta.

5.3 Correlação linear de Pearson entre a idade dos pacientes e as dosagens de cobre, zinco e TBARS no pré e pós-circulação extracorpórea (A1 e A2)

Na Tabela 5 estão apresentadas as correlações entre as dosagens de cobre, zinco e TBARS antes do início e após o término da circulação extracorpórea (A1 e A2) e a idade dos pacientes analisados.

Tabela 5 – Correlação linear de Pearson entre a idade dos pacientes e as dosagens de cobre, zinco e TBARS no momento A1 e A2

Momento	A1			A2		
Elemento	Cobre	Zinco	TBARS	Cobre	Zinco	TBARS
Correlação	-0.24	0.05	0.30	-0.36	0.01	0.14
p	0.39	0.85	0.26	0.19	0.97	0.60

Não foi encontrada associação linear entre as concentrações das dosagens e a idade dos pacientes.

5.4 Comparação das dosagens de cobre, zinco e TBARS, entre a indução anestésica (A1) e a reperfusão após o primeiro despinçamento aórtico (B1 e SC1).

Os dados da Tabela 6 apresentam a análise comparando paciente a paciente entre a indução anestésica e após o primeiro despinçamento aórtico (4 min de reperfusão), ou seja, indução anestésica / linha venosa (A1/B1) e indução anestésica / seio coronário (A1/SC1). Na tabela estão apresentados os valores médios para cada local, a diferença média encontrada e avaliação da significância pelo teste t-Student para dados emparelhados.

Tabela 6 – Comparação das dosagens de cobre (mg/L), zinco (mg/L) e TBARS (ng/ml), entre a indução anestésica (A1), linha venosa (B1) e seio coronário (SC1)

Dosagem	Local	Média	Diferença média por paciente	p
Cobre	A1	2.48	0.91	$p < 0.001$
	B1	3.39		
	A1	2.48	0.98	$p < 0.001$
	SC1	3.46		
Zinco	A1	1.06	0.17	$p = 0.04$
	B1	1.23		
	A1	1.06	0.20	$p = 0.002$
	SC1	1.25		
TBARS	A1	265.1	224.9	$p < 0.001$
	B1	490.0		
	A1	265.1	262.0	$p < 0.001$
	SC1	527.0		

Conforme observado na Tabela 6, as concentrações de cobre, zinco e TBARS são significativamente maiores na linha venosa e no seio coronário nos momentos B1 e SC1, que correspondem ao período de 4 minutos de reperfusão miocárdica após o primeiro despinçamento aórtico.

5.5 Comparação das dosagens de cobre, zinco e TBARS, entre a indução anestésica (A1) e a reperfusão após o segundo despinçamento aórtico (B2 e SC2).

Na Tabela 7 estão apresentadas as comparações entre as dosagens de cobre, zinco e TBARS no momento da indução anestésica e a linha venosa e seio coronário com 4 min de reperfusão após o 2º despinçamento aórtico, ou seja, A1/B2 e A1/SC2. A análise foi realizada paciente por paciente, aplicando o teste t-Student para dados emparelhados.

Tabela 7 – Comparação das dosagens de cobre (mg/L), zinco (mg/L) e TBARS (ng/ml), entre a indução anestésica (A1), linha venosa (B2) e seio coronário (SC2)

Dosagem	Local	Média	Diferença média por paciente	p
Cobre	A1	2,48	0,43	p =0.241
	B2	2,91		
	A1	2,48	0.54	p = 0.153
	SC2	3,02		
Zinco	A1	1.06	-0.02	p = 0.849
	B2	1.04		
	A1	1.06	0.12	p = 0.410
	SC2	1.18		
TBARS	A1	289.9	309.7	p < 0.001
	B2	599.6		
	A1	289.9	395.1	p < 0.001
	SC2	685		

Observa-se na Tabela 7 que as mensurações das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico foram significativamente maiores após o segundo momento de reperfusão. A análise detalhada desses dados será realizada no próximo capítulo.

5.6 Comparação das dosagens de cobre, zinco e TBARS, entre os dois períodos de reperfusão (B1/B2 e SC1/SC2).

As comparações das dosagens de cobre, zinco e TBARS entre os dois períodos de reperfusão, ou seja, entre as amostras coletadas na linha venosa e seio coronário após 4 min da remoção de cada um dos dois pinçamentos aórticos realizados (B1/B2 e SC1/SC2), estão apresentadas na Tabela 8. A análise foi realizada paciente por paciente, aplicando o teste t-Student para dados emparelhados.

Tabela 8 – Comparação das dosagens de cobre (mg/L), zinco (mg/L) e TBARS (ng/ml), entre os dois períodos de reperfusão (B1 com B2 e SC1 com SC2)

Dosagem	Local	Média	Diferença média por paciente	p
Cobre	B1	3.39	-0,48	p = 0.243
	B2	2.91		
	SC1	3.46	-0.44	p = 0.334
	SC2	3.02		
Zinco	B1	1.23	-0.19	p = 0.174
	B2	1.04		
	SC1	1.25	-0,07	p = 0.590
	SC2	1.18		
TBARS	B1	523.1	76.5	p = 0.008
	B2	599.6		
	SC1	570	115	p < 0.001
	SC2	685		

Observa-se que as dosagens das TBARS foram significativamente maiores entre os dois momentos de reperfusão.

5.7 Comparação das dosagens de cobre, zinco e TBARS, entre o último período de reperfusão e após o encerramento da CEC (B2/A2 e SC2/A2).

Na Tabela 9 estão apresentadas as comparações das dosagens de cobre, zinco e TBARS entre o último período de reperfusão e após o encerramento da circulação extracorpórea, ou seja, B2/A2 e SC2/A2. A análise foi realizada paciente por paciente, aplicando o teste t-Student para dados emparelhados.

Tabela 9 – Comparação das dosagens de cobre, zinco e TBARS, entre o último período de reperfusão e após o encerramento de CEC (B2/A2 e SC2/A2)

Dosagem	Local	Média	Diferença média por paciente	p
Cobre	B2	2,91	-0,21	p = 0.531
	A2	2.70		
	SC2	3,02	-0.32	p = 0.349
	A2	2.70		
Zinco	B2	1,04	0.13	p = 0.347
	A2	1.17		
	SC2	1,18	-0.01	p = 0.940
	A2	1.17		
TBARS	B2	599.6	-72,4	p = 0.104
	A2	527.2		
	SC2	685	-157.8	p = 0.007
	A2	527.2		

Na Tabela 9 observa-se que as concentrações das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico foram significativamente menores entre a última dosagem do seio coronário e o fim de circulação extracorpórea.

5.8 Comparação das dosagens de cobre, zinco e TBARS entre a linha venosa (B1 e B2) e o seio coronário (SC1 e SC2) após os dois períodos de reperfusão.

Na Tabela 10 estão apresentadas as comparações das dosagens de cobre, zinco e TBARS entre a linha venosa e o seio coronário, após os dois momentos de reperfusão coletadas após 4 min de cada despinçamento aórtico, ou seja, B1/SC1, B2/SC2. A análise foi realizada paciente por paciente, aplicando o teste t-Student para dados emparelhados.

Tabela 10 – Comparação das dosagens de cobre (mg/L), zinco (mg/L) e TBARS (ng/ml), entre a linha venosa (B1 e B2) e o seio coronário (SC1 e SC2) após os dois momentos de despinçamento aórtico. PA – pinçamento aórtico

Dosagem	PA	Local	Média	Diferença média por paciente	p
Cobre	1º	B1	3.39	0.07	p = 0.17
		SC1	3.64		
	2º	B2	2.91	0.11	p = 0.02
		SC2	3.02		
Zinco	1º	B1	1.23	0.02	p = 0.77
		SC1	1.25		
	2º	B2	1.04	0.14	p = 0.10
		SC2	1.18		
TBARS	1º	B1	490	37	p = 0.10
		SC1	527		
	2º	B2	600	85	p = 0.03
		SC2	685		

A análise da Tabela 10 demonstra que as dosagens de cobre e TBARS foram significativamente maiores no seio coronário em relação ao retorno venoso sistêmico após o segundo momento de reperfusão.

5.9 Comparação das dosagens médias de cobre, zinco e TBARS na indução anestésica (A1) e após o encerramento da CEC (A2).

A Tabela 11 compara as dosagens de cobre, zinco e TBARS entre a linha indução anestésica e após o encerramento da circulação extracorpórea, ou seja, A1/A2. A análise foi realizada paciente por paciente, aplicando o teste t-Student para dados emparelhados.

Tabela 11 – Comparação das dosagens médias de cobre (mg/L), zinco (mg/L) e TBARS (ng/ml), na indução anestésica (A1) e após o encerramento da CEC(A2)

Dosagem	Local	Média	Diferença média por paciente	p
Cobre	A1	2.48	0.22	p = 0.10
	A2	2.70		
Zinco	A1	1.06	0.11	p = 0.16
	A2	1.17		
TBARS	A1	265.1	221.4	p < 0.001
	A2	486.4		

Conforme análise da Tabela 11, as dosagens de TBARS apresentaram diferenças significativas entre o início do procedimento cirúrgico e após 4 minutos do encerramento do bypass cardiopulmonar.

5.10 Correlação entre as dosagens de cobre, zinco e TBARS no seio coronário (SC1 e SC2) e linha venosa (B1 e B2) com os tempos de pinçamento aórtico (1º e 2º).

Na Tabela 12 está apresentada a associação entre as dosagens de cobre, zinco e TBARS e os tempos de pinçamento aórtico. Esta análise foi feita pela correlação linear de Pearson.

Tabela 12 – Correlação linear de Pearson entre o tempo de pinçamento aórtico (PA) e as dosagens de cobre (mg/L), zinco (mg/L) e TBARS (ng/ml), na linha venosa (B) e seio coronário (SC)

PA	Local de coleta	Dosagem		
		Cobre (p)	Zinco (p)	TBARS (p)
1 ^o	B1	0.41 (0.13)	-0.21 (0.46)	0.23 (0.40)
	SC1	0.46 (0.08)	-0.14 (0.61)	0.16 (0.55)
2 ^o	B2	0.42 (0.16)	0.25 (0.40)	0.24 (0.42)
	SC2	0.42 (0.16)	0.11 (0.73)	0.35 (0.22)

Conforme apresentado na Tabela 12, a correlação linear de Pearson mostra que, a elevação das medidas dos elementos em questão nos dois momentos de reperfusão (4 min após os despinçamentos aórticos), não foi tempo dependente do pinçamento aórtico, uma vez que não foi encontrada associação significativa. Esses resultados provavelmente são decorrentes dos tempos de pinçamentos aórticos muito semelhantes.

5.11 Correlação entre o tempo total de pinçamento aórtico (PA) com as dosagens de cobre, zinco e TBARS após o segundo despinçamento aórtico (B2 e SC2).

Na Tabela 13 estão apresentadas as análises da associação, pela correlação linear de Pearson, entre o tempo total de pinçamento, ou seja, a soma dos tempos dos dois pinçamentos aórticos e as dosagens de cobre, zinco e TBARS, mensuradas na linha venosa (B2) e seio coronário (SC2) após segundo despinçamento aórtico.

Tabela 13 – Correlação linear de Pearson entre o tempo total de pinçamento aórtico e as dosagens de cobre (mg/L), zinco (mg/L) e TBARS (ng/ml), na linha venosa (B2) e seio coronário (SC2)

Tempo total de pinçamento aórtico (19,8min)	Elemento dosado		
	Cobre	Zinco	TBARS
B2	0.48	0.29	0.24
p	0.09	0.33	0.41
SC2	0.48	0.13	0.35
p	0.10	0.67	0.23

Não foi encontrada associação significativa entre o tempo total de pinçamento e as mensurações de cobre, zinco e TBARS, ao final do segundo período de reperfusão miocárdica.

5.12 Correlação entre o tempo de circulação extracorpórea e as dosagens de cobre, zinco e TBARS após encerramento de CEC (A2).

A Tabela 14 apresenta a correlação entre o tempo de bypass cardiopulmonar e as mensurações de cobre, zinco e TBARS após 4 minutos do encerramento da circulação extracorpórea.

Tabela 14 – Correlação entre o tempo de CEC e as dosagens de cobre (mg/L), zinco (mg/L) e TBARS (ng/ml) após o encerramento do bypass (A2)

Tempo total de CEC (min)	Elemento dosado após encerramento CEC		
	Cobre	Zinco	TBARS
Correlação	0.61	-0.04	0.21
p	(0.02)	(0.89)	(0.44)

Conforme se observa na Tabela 14, as elevações dos níveis plasmáticos de cobre esta associada significativamente com o tempo de CEC, ou seja, as médias das concentrações do elemento estão relacionadas ao maior tempo de bypass.

6 DISCUSSÃO

Como já mencionado anteriormente, durante a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea acontece uma série de alterações inflamatórias e imunológicas desencadeando estresse oxidativo. Nas condições não fisiológicas durante a CEC, em razão de alterações relacionadas à isquemia e reperfusão, ocorre um surto de radicais livres e ERMO. Nas síndromes isquêmicas miocárdicas, está bem estabelecido que o oxigênio reintroduzido no miocárdio durante a reperfusão causa injúria significativa. Este estresse é um dos iniciadores do dano miocárdico resultante (KU *et al.*, 1982; BRAUNWALD; KLONER, 1985).

Os pacientes que preencheram os critérios para este estudo eram portadores de síndrome coronariana aguda com indicações clássicas de revascularização miocárdica. O intervalo de tempo entre início dos sintomas da síndrome coronariana aguda, isto é do diagnóstico até o tratamento cirúrgico foi de 7 a 10 dias. Esse período correspondeu ao tempo necessário para otimização do tratamento e estabilização do quadro clínico dos pacientes.

Neste estudo foi observada a prevalência de pacientes masculinos semelhante aos índices estatísticos estabelecidos tanto a nível mundial quanto nacional. A faixa etária também não contradiz os dados já conhecidos da literatura (Fonte: DATASUS, 2012).

A fração de ejeção ventricular esquerda obtida pela ecocardiografia é um importante elemento para avaliação do prognóstico após infarto agudo do miocárdio, considerando-se pacientes de alto risco aqueles com fração de ejeção abaixo de 40% (VOLPI *et al.*, 1993).

No presente estudo 8 pacientes apresentaram FE menor que 0,50, sendo metade desses (4) com fração de ejeção de 0,40, demonstrando o comprometimento da função ventricular. Apesar da característica dessa população, não ocorreu nenhum óbito peri operatório.

A CEC utilizada durante a cirurgia cardíaca desencadeia uma reação inflamatória e conseqüente estresse oxidativo que está diretamente relacionada com a sua duração (AKILA *et al.*, 2007).

No presente estudo o tempo médio de CEC foi de 68 minutos, compatível com outros estudos publicados (MATATA *et al.*, 2000; AKILA *et al.*, 2007; MELEK *et al.*, 2012). Três pacientes necessitaram tempo de CEC maior que 90 min. pela necessidade de maior número de enxertos. No entanto não houve correlação com complicações peri operatórias.

Sabe-se que a resposta inflamatória relacionada a CEC é tempo dependente e aquela está intimamente relacionada com o estresse oxidativo, o que poderia acarretar em mensurações de estresse oxidativo elevado. Apesar dessa suposição, o presente trabalho e outros publicados na literatura (MATATA *et al.*, 2000; AKILA *et al.*, 2007; MELEK *et al.*, 2012), pelo fato de terem tempo de CEC menores que 120 min, não foi evidenciado relação positiva entre tempo de CEC e estresse oxidativo.

Os parâmetros metabólicos medidos durante todo o procedimento cirúrgico (Tabela 2) mantiveram-se dentro de limites compatíveis com a estabilidade transoperatória.

Conforme mencionado no resumo bibliográfico, a dosagem direta dos radicais livres não é um procedimento factível devido ao tempo de vida médio extremamente curto destas substâncias. As metodologias usadas outrora, como a mensuração de azul de metileno não permitem obter dados confiáveis devido a absorção parcial desse composto, o que leva a erros graves de determinação desses radicais. Os métodos instrumentais como a ressonância paramagnética eletrônica, não são facilmente disponíveis para esse fim.

O método utilizando a mensuração das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), que foi usado no presente trabalho, é uma aproximação do método ideal. Porém é conhecido que o malondialdeído (MDA) – produto de destruição dos compostos contendo elétrons desemparelhados – não é único indicador do estresse oxidativo. Diz-se que é apenas uma janela no espaço onde atuam os radicais livres. Apesar disso, para fins de comparação com os dados disponíveis na literatura, esta metodologia é aceitável.

O mecanismo de produção de radicais livres está intimamente correlacionado com a presença de íons metálicos dos elementos que possuem dois ou mais estados de oxidação, como cobre, ferro, cromo, níquel, cobalto e manganês. A maior atenção dos pesquisadores foi enfocada no papel dos três primeiros desses elementos, apesar do cromo desempenhar apenas uma pequena parte das reações redox.

Esses elementos participam no papel de catalisadores nos processos de HABER-FENTON. É sabido que a quantidade do íon metálico pode ser baixa, já que após a formação do radical peróxido de hidrogênio, ocorre a reação redox reversível, o que gera ainda maiores quantidades de radicais livres. Ao mesmo tempo, o biometal volta ao estado de oxidação superior.

Outro grupo de elementos bivalentes, que não possuem os estados de oxidação adicionais, não pode participar nos processos de geração de radicais livres por não possuir d-orbitais. Apesar disso não podem ser considerados neutros ao metabolismo dessas partículas. No caso de zinco, é de ressaltar o seu papel na neutralização dos efeitos do elétron solvatado. Portanto, a posteriori discutiremos o papel dos principais elementos do primeiro e segundo grupo, que são cobre e zinco, no que diz respeito ao estresse oxidativo.

Durante a cirurgia cardíaca, o preenchimento dos componentes do circuito da CEC para o início da perfusão é realizado com soluções acelulares, que acarreta a hemodiluição. Em vista disto, os valores obtidos para o cobre, zinco e TBARS foram corrigidos para a nova situação volêmica, levando-se em conta a variação do hematócrito nos diversos momentos de análise.

6.1 COBRE

Durante o processo inflamatório desencadeado pelo fenômeno de isquemia e reperfusão, o comportamento de alguns íons metálicos, o cobre em particular, reflete a dinâmica de formação das espécies reativas de oxigênio.

As médias das concentrações de cobre no momento A1 (Figura 5) estão acima dos dados publicados na literatura para adultos saudáveis, que são de 0,8 – 1,2 mg/l. (IYENGAR, WOITTIEZ, 1988; OMS, 1998).

Nos estudos realizados em Campo Grande/MS, conduzidos por Melnikov *et al.*, sendo o primeiro deles (2007) em mães lactantes no primeiro mês pós parto e o segundo (2009) em crianças, foi observado que as concentrações plasmáticas de cobre nessa localidade, também apresentavam-se acima dos valores normais.

A principal via de ingresso de cobre no organismo humano é via oral (OMS, 1998). A variação da ingestão desse mineral depende dos hábitos alimentares da população e da concentração de cobre na água consumida. Contudo, no estudo já mencionado referente ao conteúdo de cobre na água dos domicílios, foi demonstrado que as quantidades do metal são praticamente insignificantes (MELNIKOV *et al.*, 2007). Portanto, esta via pode ser descartada para os pacientes do presente estudo, ficando a possibilidade de advir através dos alimentos que quando cozidos ou armazenados em recipientes de cobre ou latão, podem estar contaminados com quantidades significativas deste metal.

No estudo publicado por Altekin *et al.* (2005), foi evidenciado que em pacientes com IAM, a elevação das concentrações dos marcadores de necrose cardíaca mantém uma relação direta com a concentração do cobre plasmático, ou seja, quanto maior a concentração da troponina e da CK-MB, maiores as concentrações do cobre plasmático. Relataram também que a concentração plasmática do elemento está aumentada entre o 1º e o 7º dia do evento agudo, apresentando declínio gradual, porém não alcançando valores normais até o 14º dia.

Nos momentos B1 e SC1 (figura 4), os valores plasmáticos de cobre são maiores quando comparados aos níveis iniciais de modo significativo. Já foi

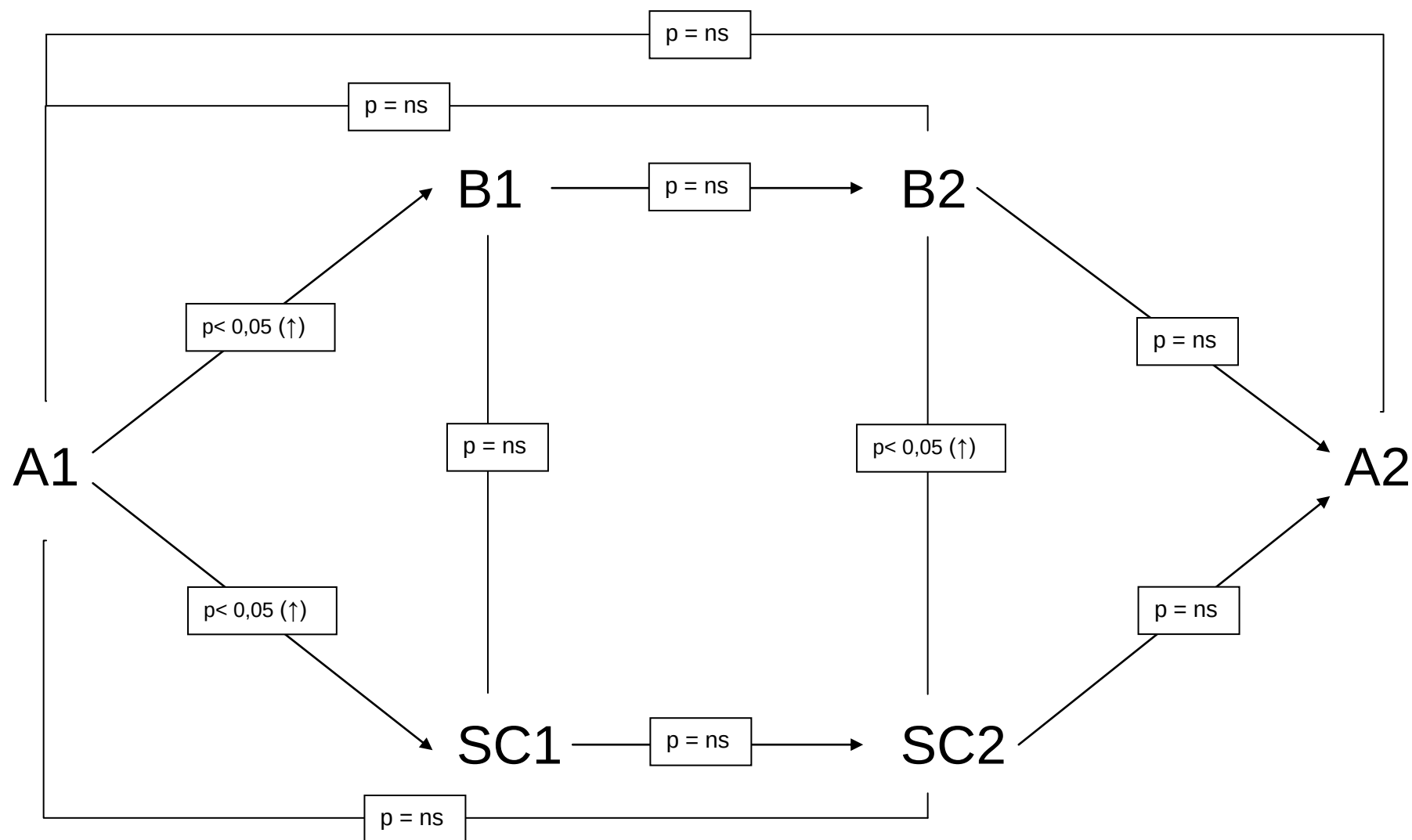


Figura 5. Representação esquemática da dinâmica das concentrações de cobre. Abreviações no texto. ($\uparrow\downarrow$) significa o sinal da variação.

demonstrado anteriormente um aumento da concentração intramiocárdica de cobre durante o período de clampeamento aórtico durante o procedimento cirúrgico (ZAMPARELLI *et al.*, 1986; FRASER *et al.*, 1989). Desta forma, é esperado que o aumento das concentrações de cobre intramiocárdicas, pode levar ao aumento de seus níveis plasmáticos.

Por outro lado, o incremento do cobre observado após a primeira reperfusão (B1 e SC1) pode indicar de forma indireta o aumento da concentração da enzima SOD, importante inativadora de radicais livres que, por sua vez, conforme os dados da literatura, estaria elevada nas condições do estresse oxidativo (AL-BADER *et al.*, 1998). Isto pode ser corroborado pela observação do aumento das TBARS ocorrido neste mesmo momento cirúrgico (Figura 7).

Assim, nos parece desejável manter as baixas concentrações de cobre durante os períodos de isquemia-reperfusão que ocorrem durante a cirurgia cardíaca. Este metal estaria menos disponível para as reações de oxirredução, diminuindo a injúria tissular.

De acordo com a literatura (TORTOLANI *et al.*, 1993; CLERMONT *et al.*, 2002), a maior produção miocárdica de radicais livres detectadas em amostras coletadas do seio coronário ocorre dentro de 3-5 minutos de reperfusão. Este cobre excessivo está diretamente relacionado ao aumento dos radicais $\text{OH}^\bullet$ e à injúria tissular presente (POWELL *et al.*, 1991). Há de se considerar também que os radicais livres formados no circuito da CEC, ao passarem pelo miocárdio no período de reperfusão, podem se somar àqueles ali já produzidos, exacerbando o dano celular relacionado à isquemia-reperfusão. Isso é demonstrado por Bolli, (1990). Dessa forma, o coração reperfundido pode não ser apenas um sítio de produção dos radicais livres, mas também representar um alvo daqueles produzido pela circulação sistêmica.

De fato, no presente estudo não houve diferença entre as amostras coletadas concomitantemente no seio coronário (SC1) e na bomba de CEC (B1), fazendo supor que “pool” de radicais livres produzidos na circulação sistêmica não contribuiu substancialmente na maior injúria oxidativa no momento da reperfusão.

Após o primeiro despinçamento aórtico, as concentrações plasmáticas de cobre diminuem progressivamente até o final da CEC (A2) (Figura 5), porém de modo estatisticamente não significativo. Apesar desta diminuição progressiva, foi evidenciada uma diferença estatisticamente significativa entre as amostras do seio coronário e da circulação sistêmica após o segundo despinçamento aórtico (B2 e SC2). Isto parece refletir uma mobilização mais lenta do cobre do tecido miocárdico isquêmico. Neste momento, deve-se levar em consideração que apenas um enxerto vascular havia sido confeccionado, o que indicaria um menor grau da mobilização do cobre. Realmente, esta possibilidade é corroborada pela diminuição mais acelerada após o segundo despinçamento, onde a reperfusão torna-se completa pelo término da confecção dos enxertos. Por outro lado, os níveis mais elevados de cobre no momento SC2, comparadas ao B2 (Figura 5), podem refletir uma maior produção local de enzimas antioxidantes contendo cobre como centro metálico ativo, no tecido recém perfundido.

No que diz respeito à relação da concentração de cobre pré-isquêmico (A1) e as mensurações máximas observadas (SC1), essa proporção equivale a 1,38. Isto significa, que no presente trabalho, o surto de cobre durante a isquemia foi mínimo em comparação a trabalhos publicados na literatura para os tempos comparáveis da isquemia (BORENSHTEIN *et al.*, 1997). Isto é uma indicação da menor alteração tecidual e, portanto caracteriza que a proteção miocárdica adotada é eficaz.

Em vista destes efeitos, do ponto de vista clínico, a diminuição observada nas concentrações deste metal após o primeiro despinçamento, é indubitavelmente positiva.

Sabe-se que o papel do cobre é ambíguo, dependendo da forma iônica ou ligada com albuminas transportadoras, em que se apresenta. No entanto, apesar da elevação das suas concentrações nos diversos momentos da cirurgia, ao final, os níveis são comparáveis ao momento da indução anestésica, como segue do mesmo esquema. Alguns estudos mencionam que o aumento nas concentrações do cobre persiste além de 24 horas de pós-operatório (MELTZER *et al.*, 1980; ZAMPARELLI *et al.*, 1986, AL-BADER *et al.*, 1998). O fato da concentração de cobre retornar aos valores idênticos ao pré-operatório (A1 e A2), indica que os processos metabólicos envolvendo a produção de radicais livres estão em declínio.

Finalmente, Consolo *et al.*, (2008), determinaram as concentrações de cobre durante a CEC, em pacientes pediátricos portadores de cardiopatias congênitas submetidos a correção cirúrgica. Nesta população, mesmo após a correção para a hemodiluição, as concentrações de cobre foram menores, indicando certo consumo nos processos inflamatórios e nas reações enzimáticas antioxidantes. Esses resultados diferem dos apresentados no presente trabalho, e podem ser provenientes da diferença dos grupos estudados, uma vez que nos participantes de nosso trabalho, o binômio isquemia-reperfusão está presente de forma crônica. Isto se dá pelo fato dos pacientes serem portadores de doença obstrutiva coronariana há algum tempo e, além disso, o procedimento cirúrgico ser realizado por meio de pinçamento aórtico intermitente. Isso implicaria numa mobilização mais rápida e mais completa dos estoques de cobre em relação aos pacientes pediátricos, cujos mecanismos de defesa contra o estresse oxidativo ainda não estão adequadamente aprimorados.

6.2 ZINCO

É bem conhecido que a concentração plasmática de zinco pode diminuir após lesão tissular aguda incluindo o IAM (LINDEMAN *et al.*, 1973). Nesta situação, as concentrações plasmáticas deste metal diminuem no primeiro ou segundo dia após o evento agudo e então aumentam alcançando valores normais em 10-14 dias (LOW; IKRAM, 1976).

Sem dúvida, a diminuição plasmática do zinco durante estes processos é parte da reação inflamatória aguda. O possível mecanismo supõe que as interleucinas 6 e 8 estimule a produção de metalotioneinas, responsáveis não só pela circulação deste íon, como também pela sua fixação nos tecidos, empobrecendo o conteúdo no plasma.

O intervalo de tempo do evento agudo e a intervenção cirúrgica constituem, na média, de 7 a 10 dias. Isto é imprescindível para que o estado do paciente infartado se estabilize. Nesse período, as concentrações plasmáticas do zinco podem ou não retornar aos níveis anteriores, o que pode ser avaliado pelas comparações dos níveis pré-operatórios com os valores para a população em geral.

Nesse trabalho, no momento A1 (Figura 6), a concentração do zinco foi de 1,06 mg/l, o que corresponde ao intervalo aceito como normal (0,8 – 1,2 mg/l).

É possível que o período de internação para estabilização do quadro clínico tenha reduzido o processo inflamatório agudo desencadeado pela síndrome isquêmica coronariana, que constitui tempo suficiente para normalização plasmática. Também precisa ser considerado que a permanência do paciente em ambiente hospitalar propicia uma adequada ingestão alimentar que seria um fator a mais para estabilização da concentração plasmática desse mineral.

No tempo decorrido entre o início do procedimento cirúrgico e o primeiro despinçamento aórtico, ocorre uma elevação significativas das concentrações de zinco tanto na circulação sistêmica (B1) como no seio coronário (SC1) (Figura 6). Conforme os dados disponíveis na literatura relacionados com o trauma proveniente

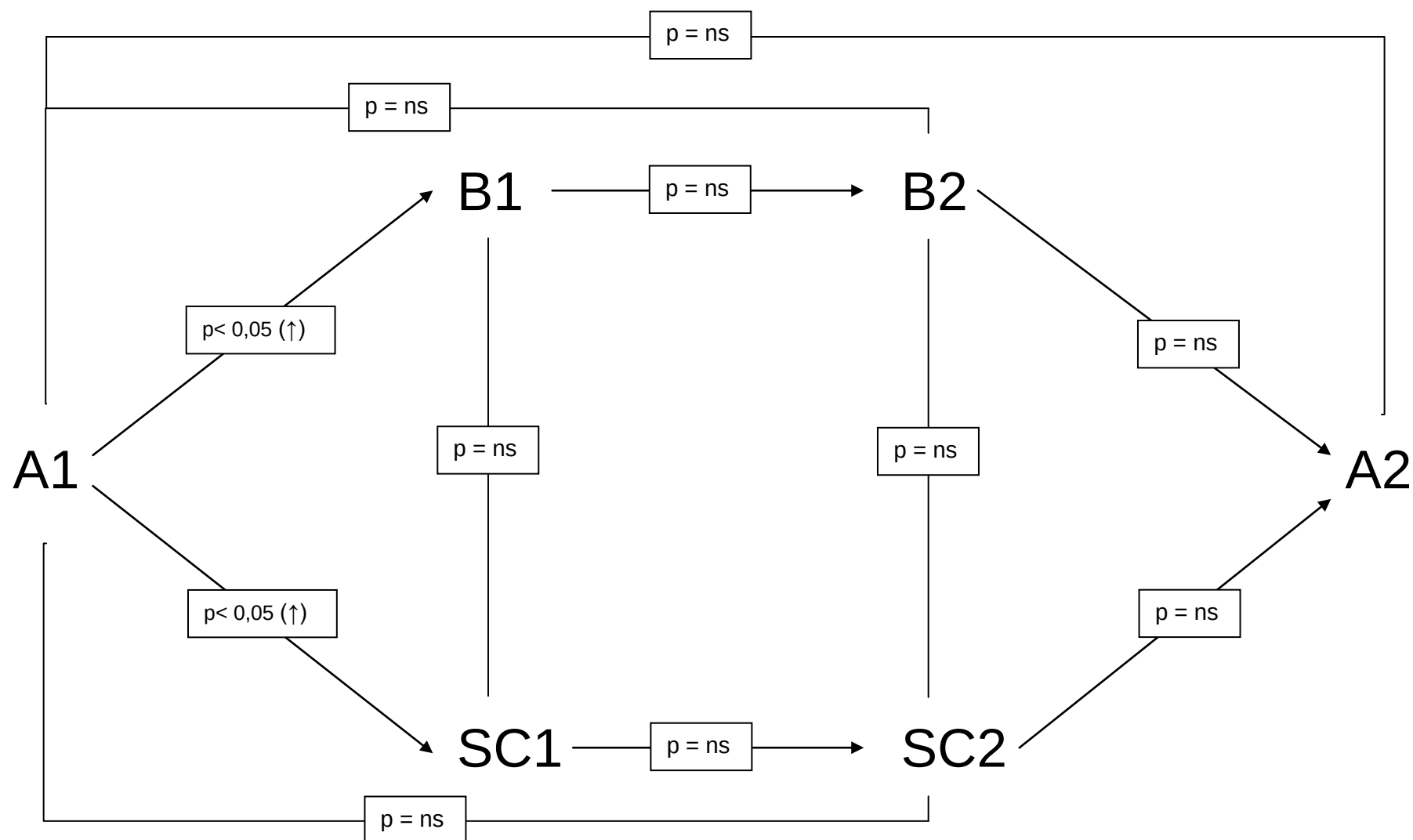


Figura 6. Representação esquemática da dinâmica das concentrações de zinco. Abreviações no texto. ($\uparrow\downarrow$) significa o sinal da variação.

do procedimento cirúrgico, era de se esperar que ocorresse neste momento, uma redução nas concentrações desse elemento (ZAMPARELLI *et al.*, 1986).

Conforme os dados sobre o papel protetor do zinco no caso da reperfusão cardíaca, os mecanismos da sua ação fisiológica se realizam ao nível mitocondrial (CHANOIT *et al.*, 2008). Ao nível sistêmico, sabe-se que a manutenção da concentração de zinco plasmático é rigorosamente mantida pelo organismo frente às funções que este metal desempenha nas reações enzimáticas, ocorrendo sua mobilização dos tecidos a fim de atender as necessidades metabólicas.

Realmente, no presente estudo, as concentrações nos momento B1 e SC1 elevam-se de forma significativa quando comparadas aos níveis iniciais (Figura 6). É importante ressaltar que as elevadas concentrações de zinco são necessárias para uma ação antioxidante, sabidamente protetora frente o processo isquemia-reperfusão (CHANOIT *et al.*, 2008).

Após o segundo despinçamento (B2 e SC2), as concentrações não variam de forma significativa (Figura 6), mantendo-se dentro dos níveis normais. Sabe-se que a CEC com duração maior que 120 min desencadeia intensa atividade inflamatória devido ao processo isquemia reperfusão (FRASER *et al.*, 1989; AL-BADER *et al.*, 1998). Desse modo, isto influenciaria os níveis plasmáticos do zinco, provocando uma queda significativa.

Nossos resultados mostram que, pelo contrário, tal diminuição não ocorre. Este fato provavelmente decorre do tempo de CEC do presente trabalho ser de apenas 68,1 min. Nessas condições, a atividade inflamatória não fica exacerbada pelo tempo de CEC, não interferindo nas concentrações do zinco. Dessa forma, essa associação de fatores pode ser extremamente favorável ao desempenho do zinco como microelemento com função protetora.

Ao final do procedimento cirúrgico (A2) (Figura 6), a concentração de zinco continua normal, sendo justificado de forma semelhante, pela discussão apresentada anteriormente em relação ao cobre. Isto pode contribuir, de certo modo, para que o pós-operatório evolua de forma favorável aos participantes do estudo.

Assim, considerando o papel da CEC na dinâmica do zinco, podemos concluir que este procedimento utilizado pelo período reduzido de tempo não é prejudicial para os resultados atingidos.

6.3 TBARS

A reintrodução de sangue na circulação coronariana após período de isquemia produzido pela CEC e pinçamento aórtico pode induzir a formação de estresse oxidativo induzido pelos radicais livres de oxigênio e outras ERMOS, que pode resultar em injúria celular.

Ragab *et al.* (2005), avaliaram um total de 65 pacientes com angina instável e infarto agudo do miocárdio, determinaram os níveis de MDA na fase aguda da síndrome e constataram valores elevados em respeito ao grupo controle.

Os pacientes do presente estudo apresentam níveis normais de MDA (265,1 ng/ml) no tempo A1 (Figura 7), indicando que o prévio evento isquêmico agudo, já foi amenizado. Assim o período de estabilização adotado no tratamento clínico do paciente é essencial para atenuação do estresse oxidativo produzido.

Foi demonstrado que, pacientes submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica não apresentam elevação dos TBARS entre a indução anestésica e o início da CEC. Isto comprova *per si*, que o trauma cirúrgico não é responsável pelo aumento do estresse oxidativo (MATATA *et al.*, 2000; CLERMONT *et al.*, 2002; CONSOLO, 2008). Esta observação permitiu, neste trabalho, preterir a dosagem analítica entre os dois momentos mencionados.

No presente estudo, o conjunto dos resultados foram semelhantes aos dados previamente conhecidos da literatura. A comparação entre dosagens realizadas nos momentos A1/B1 e A1/SC1 (Figura 7), permite descobrir uma elevação significativa dos níveis de TBARS. Isto pode ser considerado como uma indicação de que circulação extracorpórea é, de fato, indutor da ativação do estresse oxidativo.

A literatura recente traz dados no que diz respeito à relação entre estresse oxidativo, peroxidação lipídica e dano ultraestrutural miocárdico em pacientes com doença coronariana crônica, submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica. Assim, após o restabelecimento da perfusão coronariana, Milei *et al.* (2007), realizaram as determinações do estresse oxidativo e da lesão ultraestrutural. Os autores avaliaram a produção de TBARS no 5º e 20º min. após o despinçamento

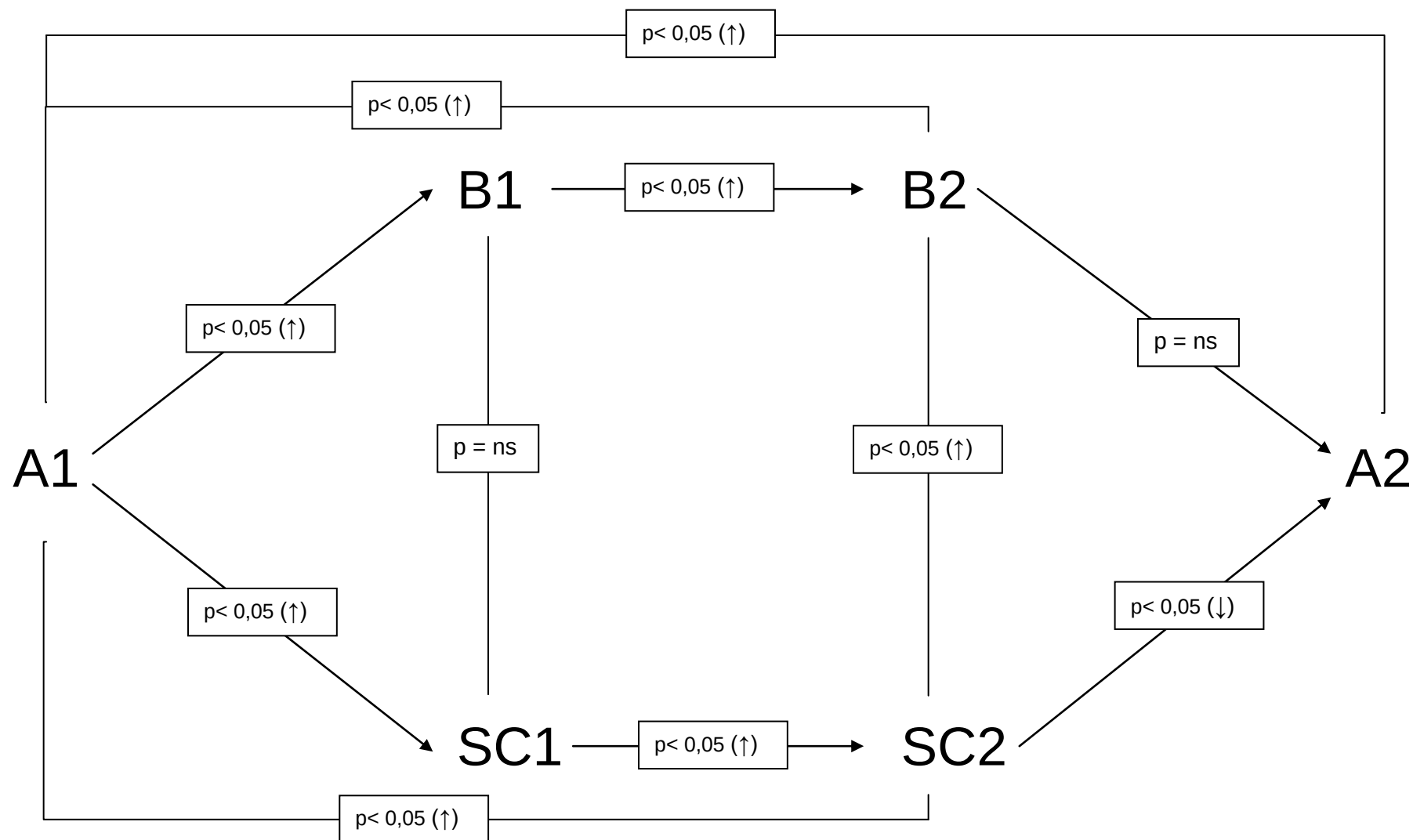


Figura 7. Representação esquemática da dinâmica das concentrações de TBARS. Abreviações no texto. ($\uparrow\downarrow$) significa o sinal da variação.

aórtico, tanto no efluente do seio coronário como na circulação sistêmica. Foi observado que, no seio coronário e na circulação sistêmica, as concentrações de TBARS são semelhantes nos dois momentos, concluindo que a produção miocárdica isolada de substâncias oxidantes não foi maior que na circulação sistêmica.

Vale ressaltar que o primeiro daqueles momentos corresponde aproximadamente ao momento B1 de nosso trabalho, mesmo que tenham tempos de pinçamento aórticos diferentes. Apesar da técnica adotada não ser exatamente a mesma, os resultados da determinação dos TBARS estão de acordo com os dados das outras metodologias.

Conforme segue dos resultados obtidos do presente trabalho, na comparação entre B1 e SC1, também não há diferença significativa dos níveis plasmáticos de TBARS, tanto do sangue da linha venosa como do seio coronário colhidos após o primeiro despinçamento. Isto demonstra claramente que o pinçamento aórtico não eleva o estresse oxidativo sistêmico além do já instalado.

Akila *et al.* (2007) realizaram um estudo comparando a cirurgia de revascularização miocárdica com e sem circulação extracorpórea em pacientes não infartados e com função ventricular preservada. O tempo médio de isquemia miocárdica no grupo “on pump” foi de 44,4 min e o tempo de CEC foi 65,6min. Foi concluído que nos pacientes submetidos à circulação extracorpórea, o estresse oxidativo é maior nesse grupo após o 15º e 60º min, retornando a valores semelhantes aos pacientes “off pump” após 24 horas do desclameamento aórtico. Apesar de não ter sido o intento de Akila *et al.*, ao se analisar minuciosamente seus resultados, podemos extrapolar os dados contidos nas tabelas publicadas. Isto permite observar que no subgrupo “on-pump”, o 5º min de reperfusão não apresenta elevação expressiva dos níveis de TBARS, porém o aumento foi progressivo. Isto se faz de forma mais evidente no 15º e 60º min, sempre apresentando padrão ascendente.

Isto diverge do nosso trabalho, uma vez que, nele observa-se uma elevação significativa dos níveis de TBARS após 4 min de despinçamento aórtico, tanto na circulação sistêmica (linha venosa), como no seio coronário (circulação coronária). Além disso, o estresse oxidativo é acentuado no segundo momento de reperfusão e apresenta tendência de redução após 4 min da finalização da circulação

extracorpórea (A2) (Figura 7). Essas diferenças podem ser devidas ao fato de que, no trabalho de Akila *et al.*, o tempo médio de isquemia miocárdica foi de aproximadamente 45 min, enquanto no presente trabalho foi de aproximadamente 20 min. Assim, um maior tempo de isquemia acarretaria uma tendência de perpetuação do estresse oxidativo e conseqüentemente níveis progressivamente mais elevados de TBARS. Contudo, esse tenderia a retornar aos níveis basais após 24 horas de desclampeamento aórtico (AKILA *et al.*, 2007).

No presente trabalho não foi mensurada a medida de TBARS após 24 horas, uma vez que o objetivo foi comparar a reperfusão coronariana com a sistêmica, onde a manutenção de mais um cateter alocado no seio coronário traria riscos pela maior invasividade do paciente. No entanto, observou-se uma tendência de queda das concentrações de TBARS no momento A2, a que provavelmente se manteve, pois os fatores desencadeantes do estresse oxidativo haviam sido afastados. É possível que os breves episódios de isquemia-reperfusão imposta pelo pinçamento aórtico intermitente tenham promovido um pré-condicionamento miocárdico (HAUSENLOY, YELLON, 2009), permitindo dessa forma, uma tolerância maior ao estresse oxidativo, e abreviando o tempo de redução dos níveis de TBARS.

MATATA *et al.* (2000) compararam em seu estudo, 2 grupos de pacientes submetidos à revascularização miocárdica, sendo o primeiro sem CEC e o segundo com CEC em normotermia. O tempo médio de CEC foi de 69min e o tempo de isquemia miocárdica de 34,2 e 35,6 min nos grupos 1 e 2 respectivamente. Os autores demonstraram que, nos pacientes submetidos à CEC, as dosagens de MDA apresentaram padrão ascendente, com pico na quarta hora após a finalização do bypass.

No presente trabalho obteve-se um tempo de bypass, em hipotermia, semelhante ao trabalho anterior (68,1 min.), porém com tempo de isquemia miocárdica menor (19,8 min.). O estresse oxidativo mensurado pelo MDA, no retorno venoso sistêmico apresenta padrão ascendente entre o primeiro e segundo pinçamento aórtico e, sem redução significativa até o momento A2 (Figura 7). No presente trabalho não foram medidos os níveis de TBARS após 4 horas de finalização do bypass, mas a tendência de redução, em valores absolutos, nos permite detectar a normalização, e não a perpetuação do padrão ascendente como

ocorreu no trabalho citado. Quando comparamos os momentos SC2 e A2 (Figura 7), confirmamos a tendência de redução ($p < 0,05$). Essas diferenças podem ser devidas ao fato de que, a leve hipotermia, como método de atenuação do metabolismo sistêmico, diminua o grau de dano provocado pela isquemia-reperfusão. Portanto, a utilização da referida técnica, necessariamente, repercute na redução precoce dos níveis de malondialdeído.

Em relação às comparações entre o tempo de pinçamento aórtico e os níveis mensurados de MDA, observamos que ocorre uma maior elevação após o segundo despinçamento, principalmente na amostra do seio coronário (SC2) (Figura 7). Por outro lado, essas concentrações se reduzem progressivamente após a finalização da CEC. Isto se faz mais evidente quando comparamos os valores de TBARS entre os momentos SC2 e A2, fazendo supor que os mecanismos antioxidantes intrínsecos do miocárdio são mais efetivos na atenuação do estresse oxidativo.

Outro aspecto a ser ressaltado, é o fato de que nesse momento (A2), o término da confecção dos enxertos permitiu restabelecer o fluxo sanguíneo miocárdico antes comprometido pela coronariopatia. Dessa forma, circulação ali restituída, possibilitou a mobilização ao tecido miocárdico isquêmico, de todas as defesas antioxidantes orgânicas produzidas, possibilitando uma redução precoce dos níveis de malondialdeído.

Dessa forma, podemos constatar que os métodos de proteção miocárdica ainda merecem ampla discussão, uma vez que, na maioria dos trabalhos que abordam o processo isquemia e reperfusão, utiliza-se como metodologia a dosagem de marcadores de lesão e necrose miocárdica, ou seja, se restringem apenas aos surtos de hipóxia. Assim, ocorrendo ou não a lesão mediada pela isquemia, a reperfusão desencadeará lesão adicional à já instalada, acarretando graves alterações de desempenho cardíaco, muitas vezes irreversíveis. Além disso, também podemos constatar que, as investigações no campo da biologia molecular e atômica têm por objetivo desvendar os processos metabólicos em sua microestrutura, no intuito de se descobrir métodos ou mecanismos subcelulares que permitam bloquear ou amenizar as lesões miocitárias. A metodologia de detecção de lesões mediadas pela reperfusão (TBARS), ainda é um campo a ser explorado pela

cardiologia. Os elementos cobre e zinco, relativamente fáceis de serem dosados, podem ser utilizados como marcadores de gravidade do estresse oxidativo. A técnica de pinçamento aórtico intermitente proposta em 1987 por BONCHEK & BURLINGAME, adotada por poucas equipes de cirurgiões cardiovasculares, faz com que os trabalhos seguindo essa técnica, sejam escassos. Apesar disso, as comparações com os demais métodos, demonstra que o pinçamento aórtico intermitente pode diminuir as lesões mediadas pela reperfusão. Não obstante a isso, também evidenciamos que, apesar dos diversos métodos de proteção miocárdica, o estresse oxidativo sempre ocorrerá. Dessa forma, cabe ao cirurgião cardiovascular, investigar novas formas, artifícios ou medicações que possibilite a otimização das defesas orgânicas do próprio paciente diante do estresse oxidativo.

Assim, abre-se um vasto campo de pesquisa, baseada na biologia molecular e atômica, com intuito de diminuir os agravos do binômio isquemia-reperfusão.

7 CONCLUSÕES

1. As concentrações plasmáticas do cobre no pré-operatório foram maiores em comparação com os trabalhos relatados na literatura, confirmando níveis locais mais altos em Mato Grosso do Sul.
2. A elevação das concentrações de cobre durante a circulação extracorpórea foi maior do que aquela prevista para a hemodiluição, indicando o envolvimento dos processos inflamatórios locais.
3. A dinâmica das concentrações de cobre durante a cirurgia de revascularização miocárdica reflete seu papel como elemento traço fundamental nos processos de estresse oxidativo.
4. O impacto da isquemia-reperfusão faz com que os níveis de cobre subam durante a intervenção cirúrgica, voltando aos níveis básicos devido à atenuação do estresse oxidativo.
5. Em contraste com o cobre, o comportamento do zinco reflete o papel protetor miocárdico, pois não depende dos processos redox..
6. As concentrações plasmáticas de zinco no pré-operatório concordam com os dados da literatura para a população geral.
7. Os resultados das dosagens de malondialdeído mostram claramente que, a revascularização miocárdica com circulação extracorpórea é acompanhada de surto de radicais livres com a tendência deste diminuir progressivamente.
8. O comportamento das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico, apesar das diferenças nas metodologias, apresenta-se semelhante, indicando que o estresse oxidativo é um componente patofisiológico inevitável.

REFERÊNCIAS

- Acharya J, Punchard NA, Taylor JA, Thompson RPH, Pearson TC. Red cell lipid peroxidation and antioxidant enzymes in iron deficiency. *Eur J Haematol* 1991; 47:287-291.
- Al-Bader A, Christenson JT, Simonet F, Abul H, Dashti H, Schmuziger M. Inflammatory response and undergoing coronary artery bypass grafting. *Cardiovasc Surg.* 1998; 6:406-414.
- Alexandrova ML, Bochev PG. Oxidative stress during the chronic phase after stroke. *Free Radical in Biology e Medicine.* 2005; 39:297-316.
- Altekin, E. Coker C, Sisman AR, Onvural B, Kuralay F, Kirimli O. The relationship between trace elements and cardiac markers in acute coronary syndromes. *J Trace. Elem Med Biol.* 2005; 18: 235-42.
- Akila, Benedicta D'souza, Prashant Vishwanath, Vivian D'souza. Oxidative injury and antioxidants in coronary artery bypass graft surgery: Off-pump CABG significantly reduces oxidative stress. *Clinica Chimica Acta.* 2007; 375:147–152.
- Bassan R. Atacando o dragão numa nova frente: o que podemos fazer para reduzir o tempo de atendimento do infarto agudo do miocárdio? *Rev SOCERJ* 1994;7:102-5.
- Berenshtein E, Mayer B, Goldberg C, Kitrossky N, Chevion M. Patterns of mobilization of copper and iron following myocardial ischemia predictive criteria for tissue injury. *J Mol Cell Cardiol.* 1997; 29(11):3025-34.
- Biglioli P, Cannata A, Alamanni F, Naliato M, Porqueddu M, Zanobini M, Tremoli E, Parolari A. Biological effects of off-pump vs. on-pump coronary artery surgery: focus on inflammation, hemostasis and oxidative stress. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery.* 2003; 24:260–9.

Bodenheimer MM, Banka VS, Hermann GA et al.. Reversible asynergy. Histopathologic and electrographic correlations in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 1976; 53:792-6.

Boersma E, Maas AC, Deckers JW, Simoons ML. Early thrombolytic treatment in acute myocardial infarction: reappraisal of the golden hour. *Lancet*. 1996; 348:771-5.

Bolli R. Mechanisms of myocardial “stunning”. *Circulation*. 1990; 82:723-38.

Bolli R. Oxygen-derived free radicals and myocardial reperfusion injury: an overview. *Cardiovasc Drugs Ther*. 1991; 5(Suppl 2):249– 68.

Bolli R. Oxygen-derived free radicals and postischemic myocardial dysfunction (“stunned myocardium”). *J Am Coll Cardiol*. 1988; 12:239-49.

Braile DM, Godoy MF. História da cirurgia cardíaca. *Arq Bras Cardiol*. 1996; 66(1):329-37.

Bray TM, Bettger WJ. The physiological role of zinc as an antioxidant. *Free Radic Biol Med*. 1990; 8(9):281-91.

Braunwald E, Kloner RA - Myocardial reperfusion: A double-edge sword? *J Clin Invest*. 1985; 76:1713-9.

Carvalho MEA, Chagas ACP, Yoshida V, Pileggi F, Da Luz PL. Avaliação da função mitocondrial em miocárdio de cães submetidos à isquemia e reperfusão. *Arq Bras Cardiol*. 1991; 57:93.

Consolo LZZ. Alterações plasmáticas do cobre e do zinco em crianças submetidas à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea [Tese]. Campo Grande: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul; 2008.

Cohen MV. Free radicals in ischemic and reperfusion myocardial injury: is this time for clinical trials? *Ann Intern Med.* 1989; 111:918-31.

Chatterjee K, Swan HJC, Parmley WW et al. Influence of direct myocardial revascularization on left ventricular asynergy and function in patients with coronary heart disease. *Circulation.* 1973;47:276-86.

Chanoit G, Lee S, Xi J, McIntosh RA, Mueller RA, Norfleet EA, Xu Z. Exogenous zinc protects cardiac cells from reperfusion injury by targeting mitochondrial permeability transition pore through inactivation of glycogen synthase kinase-3 β . *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008; 295(3):1227-33.

Cherubini A, Riggiero C, Polidori C, Mecocci P. Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical in Biology e Medicine.* 2005; 39:841-852.

Chevion M. A site-specific mechanism for free radical induced biological damage: the essential role of redox-active transition metals. *Free Radic Biol Med.* 1988; 5:27-37.

Clermont G, Vergely C, Jazayeri S, Lahet JJ, Goudeau JJ, Lecour S, David M, Rochette L, Girard C. Systemic free radical activation is a major event involved in myocardial oxidative stress related to cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology.* 2002; 96:80-7.

Dementeva II, Andrianova MIU, Dzemeshevich SL, Iavorovskii AG, Lokshin LS. Changes in the content of microelements – copper, zinc and iron – in the blood of patients following cardiopulmonary bypass. *Anesteziol Invest Dermatol.* 1983; 81:369-75.

Duilio C, Ambrosio G, Kuppusamy P, DiPaula A, Becker LC, Zweier JL. Neutrophils are primary source of O₂ radicals during reperfusion after prolonged myocardial ischemia. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol).* 2001; 280:(H)2649-57.

Evora PRB, Pearson PJ, Seccombe JF, Schaff HV. Lesão de Isquemia-Reperusão. Aspectos Fisiopatológicos e a Importância da Função Endotelial. Arq Bras Cardiol. 1996; 66(4).

Fibrinolytic Therapy Trialists' (FTT) Collaborative Group. Indications for fibrinolytic therapy in suspected acute myocardial infarction: collaborative overview of early mortality and major morbidity results from all randomized trials of more than 1000 patients. Lancet. 1994; 343:311-22.

Fraser WD, Taggart DP, Fell GS, Lyon TD, Wheatlhey D, Garden OJ, Shenkin A. Changes in iron, zinc, and copper concentrations in serum and in their binding to transport proteins after cholecystectomy and cardiac surgery. Clin Chem. 1989; 35:2243-7.

Fuhrer G, Heller W, Hoffmeister HE, Sterzing T. Levels of trace elements during and after cardiopulmonary bypass operations. Acta Pharmacol Toxicol (Copenh). 1986; 59(Suppl 7):352-7.

Gerritsena WBM, Van Boven WJP, Driessen AHG, Haas FJLM, Aarts LPHJ. Off-pump versus on-pump coronary artery bypass grafting: oxidative stress and renal function. European Journal of Cardio-thoracic Surgery. 2001; 20:923–9.

Gibson CM. Time is myocardium and time is outcomes. Circulation. 2001; 104:2632-4.

Giordano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia and heart failure. J Clin Invest. 2005; 115:500-8.

Gomes WJ, Saba JC, Buffolo E. 50 anos de circulação extracorpórea no Brasil. Rev Bras Cir Cardiovasc. 2005; 20(4):1-6.

Grieve DJ, Byrne JA, Cave AC, et al.. Role of oxidative stress in cardiac remodeling after myocardial infarction. *Heart Lung Cir.* 2004; 13:132-38.

Gurwitz JH, McLaughlin TJ, Willison DJ, Guadagnoli E, Hauptman PJ, Gao X, Soumerai SB. Delayed hospital presentation in patients who have had acute myocardial infarction. *Ann Intern Med.* 1997; 126:593-9.

Hausenloy DJ, Yellon DM. 41. Preconditioning and postconditioning: underlying mechanisms and clinical Application. *Atherosclerosis.* 2009, Jun; 204(2):334-41.

Hambidge M. Human zinc deficiency. *J Nutr.* 2003; 130(5S Suppl):1344S-9S.

Helfant RH, Pine R, Meister SG, Feldman MS et al.. Nitroglycerin to unmask reversible asynergy. Correlation with postcoronary bypass ventriculography. *Circulation.* 1974; 50:108-13.

Herkert O, Diebold I, Brandes RP, Hess J, Busse R, Gorlach A. NADPH oxidase mediates tissue factor-dependent surface procoagulant activity by thrombin in human vascular smooth muscle cells. *Circulation.* 2002; 105:2030– 6.

Horn HR, Teichholz LE, Cohn PF, Herman MV, Gorlin R. Augmentation of left ventricular contraction pattern in coronary artery disease by an inotropic catecholamine. The epinephrine ventriculogram. *Circulation.* 1974; 49:1063-71.

ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither among 17,187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2. *Lancet.* 1988; 2:349-60.

Iyengar V, Woittiez J. Trace elements in human clinical specimens: evaluation of literatura data to identify reference values. *Clin Chem.* 1988; 34:474-81.

Kannel WB, Cupples LA, D'Agostino RB. Sudden death risk in overt coronary heart disease: the Framingham Study. *Am Heart J*. 1987; 113:799-804.

Kashyap MK, Yadav V, Sherawat BS, Jain S, Kumari S, Khullar M, Sharma PC, Nath R. Different antioxidant status, total antioxidant power and free radical in essential hypertension. *Molecular and Biochemistry*. 2005; 277:89-99.

Kereiakes DJ, Weaver WD, Anderson JL, Feldman T, Gibler B, Aufderheide T, Williams DO, Martin LH, Anderson LC, Martin JS. Time delays in the diagnosis and treatment of acute myocardial infarction: a tale of eight cities. Report from the Pre-hospital Study Group and the Cincinnati Heart Project. *Am Heart J*. 1990; 120:773-80.

Kloner RA, Przyklenk K, Whittaker P. Deleterious effects of oxygen radicals in ischemia/reperfusion: resolved and unresolved issues. *Circulation*. 1989; 80:1115-27.

Kimchi A, Rozanski A, Fletcher C et al.. Reversal of rest myocardial asynergy during exercise. A radionuclide scintigraphic study. *Am J Coll Cardiol*. 1985; 6:1004-10.

Kin H, Zhao Z-Q, Sun H-Y, Wang N-P, Corvera JS, Halkos ME, et al.. Postconditioning attenuates myocardial ischemia–reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Res*. 2004; 62:74-85.

Ku DD - Coronary vascular reactivity after acute myocardial ischemia. *Science*. 1982; 218: 576-8.

Kusuoka H, Marban E. Cellular mechanisms of myocardial stunning. *Ann Rev Physiol*. 1992; 54:243-56.

Lazzarino G, Raatikainen P, Nuutinen M, et al. Myocardial release of malondialdehyde and purine compounds during coronary bypass surgery. *Circulation*. 1994; 90:291-97.

Lindeman RD, Yunice AA, Baxter DJ, Miller LR, Nordquist J. Myocardial zinc metabolism in experimental myocardial infarction. *J Lab Clin Med.* 1973; 81(2):194-204.

Litwak RS, Giannelli JJ – Open Intracardiac Operations Employing Extracorporeal Circulation. in Litwak, RS; Jurado, RA – *Care of the Cardiac Surgical Patient.* Appleton-Century-Crofts, Norwalk, 1982.

Low WI, Ikram H. Plasma zinc in acute myocardial infarction. Diagnostic and prognostic implications. *Br Heart J.* 1976 December; 38(12):1339–42.

Lucchesi BR. Complement, neutrophils and free radicals: mediators of reperfusion injury. *Arzneim-Forsch/Drug Res.* 1994; 44:420–32.

Matata BM, Sosnowski AW, Galiñanes M. Off-pump bypass graft operation significantly reduces oxidative stress and inflammation. *Ann Thorac Surg.* 2000; 69:785-91.

Maret W. The function of zinc metallothionein: a link between cellular zinc and redox state. *J Nutr.* 2000; 130(5S Suppl):1455S-8S.

Marezin N, El-Habashi N, Hoare GS, Bundy RE, Yacoub M. Antioxidants in myocardial ischemia-reperfusion injury: therapeutic potential and basic mechanisms. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 2003; 420:222-36.

McCall KA, Huang C, Fierke CA. Function and mechanism of zinc metalloenzymes. *J Nutr.* 2000; 130(5S Suppl):1437S-46S.

Melnikov P, Moura AJC, Palhares DB, Figueiredo CSM. Zinc and Copper in Colostrum. *Indian Pediatr.* 2007; 44:355-7.

Meltzer R, Chiu RC, Mulder DS, Scott HJ, Brown RA, Tanaka Y. Myocardial cations and trace metals in cardioplegia: a clinical study. *Can J Surg*. 1980; 23:113-6.

Melek FE, Baroncini LAV, Repka JCD, Nascimento CS, Précoma DB. Oxidative stress and inflammatory response increase during coronary artery bypass grafting with extracorporeal circulation. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2012; 27(1):61-5.

Milei J, Forcada P, Fraga CG, Grana DR, Iannelli G, Chiariello M, Tritto I, Ambrosio G. Relationship between oxidative stress, lipid peroxidation, and ultrastructural damage in patients with coronary artery disease undergoing cardioplegic arrest/reperfusion. *Cardiovascular Research*. 2007; 73:710–9.

Misra MK, Sarwat M, Bhakuni P, et al. Oxidative stress and ischemic myocardial syndromes. *Med Sci Monit*. 2009; 15:209-19.

Morrison LJ, Verbeek PR, McDonald AC, Sawadsky BV, Cook DJ. Mortality and prehospital thrombolysis for acute myocardial infarction: A metaanalysis. *JAMA*. 2000 May 24; 283(20):2686-92.

Myerburg RJ, Castellanos A. Cardiac arrest and sudden death. In: Braunwald E, editor. *Textbook of cardiovascular medicine*. 6th ed. Philadelphia: W.B.Saunders; 2001; 890-923.

Ochoa JJ, Vilchez MJ, Mataix J, Ibáñez-Quiles S, Palacios MA, Muñoz-Hoyos A. Oxidative Stress in Patients Undergoing Cardiac Surgery: Comparative Study of Revascularization and Valve Replacement Procedures. *Journal of Surgical Research*. 2003; 111:248-54.

Organização Mundial de Saúde, Genebra. *Elementos traço na nutrição e saúde humanas*. São Paulo, Roca, 1998.

Park JL, Lucchesi BR. Mechanisms of myocardial reperfusion injury. *Annals of Thoracic Surgery*. 1999; 68:1905-12.

Percário S, Vital ACC, Jablonka F. Dosagem do malondialdeído. *NewsLab*. 1994; 2(6):46-50.

Pimenta L, Bassan R, Potsch A. Perfil das primeiras horas da fase pré-hospitalar no IAM: é possível reduzir o IAM? *Arq Bras Cardiol*. 1992; 59(Supl. II):111.

Popio KA, Gorlin R, Bechtel D, Levine JA. Postextrasystolic potentiation as a predictor of potential myocardial viability: preoperative analyses compared with studies after coronary bypass surgery. *Am J Cardiol*. 1977; 39:944-53.

Powell SR, Gurzenda EM, Wingertzahn MA, Wapnir RA. Promotion of copper excretion from the isolated rat heart attenuates post ischemic cardiac oxidative injury. *Am J Physiol*. 1999; 277:956-62.

Powell, SR. The antioxidante properties of zinc. *J Nutr*. 2000; 130(5S Suppl):1447S-54S.

Powell SR, Hall D, Aiuto L, Wapnir RA, Teichberg S, Tortolani AJ. Zinc improves post ischemic recovery of isolated rat hearths through inhibition of oxidative stress. *Am J Physiol*. 1994; 266:2497-507.

Powell SR, Hall D, Shih A. Copper loading of hearths increases postischemic reperfusion injury. *Circ Res*. 1991; 69: 881-5.

Prates PR. Pequena história da cirurgia cardíaca: e tudo aconteceu diante de nossos olhos. *Rev Bras Cir*. 1999; 14(3):177-84.

Ragab M, Hassan H, Zaytoun T, Refai W, Rocks B, Elsammak M. Evaluation of serum neopterin, high-sensitivity C-reactive protein and thiobarbituric acid reactive

substances in Egyptian patients with acute coronary syndromes. *Exp Clin Cardiol.* 2005; 10(4):250-5.

Reed CC, Stafford TB. – *Cardiopulmonary Bypass*. 2nd. edition, Texas Medical Press. Inc., Houston, 1985.

Reeves JP, Bailey CA, Hale CC. Redox modification of sodium-calcium exchange activity in cardiac sarcolemmal vesicles. *J Biol Chem.* 1986; 261:4948-55.

Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB. The wavefront phenomenon of ischemic cell death. 1. Myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation.* 1977; 56:786-94.

Ross D, Moldeus P. Antioxidant defense systems and oxidative stress. In Vigo-Pelfrey C (ed): *Membrane lipid oxidation*. Boca Raton, CRC Press, 1991; 151-70.

Rowe GT, Manson NH, Caplan M, Hess ML. Hydrogen peroxide and hydroxyl radical mediation of activated leukocyte depression of cardiac sarcoplasmic reticulum: participation of the cyclooxygenase pathway. *Circ Res.* 1983; 53:584-91.

Russell RM. Implications of gastric atrophy for vitamin and mineral nutritures. In: hutchinson ML, Munro HN, Eds. *Nutrition and aging* New York: Academic Press, 1986:59-69.

Sanguigni V, Pignatelli P, Caccese D, et al.. Atorvastatin decreases superoxide anion production in hypercholesterolemic patients. *Eur Heart J.* 2002; 4:372.

Sandstead HH. Understanding zinc: recent observations and interpretations. *J Lab Clin Med.* 1994; 124:322-7.

Schomig A, Kastrati A, Dirschinger J, Mehilli J, Schricke U, Pache J, et al. Coronary stenting plus platelet glycoprotein IIb/IIIa blockade compared with tissue plasminogen

activator in acute myocardial infarction. Stent versus Thrombolysis for Occluded Coronary Arteries in Patients with Acute Myocardial Infarction Study Investigators. N Engl J Med. 2000 Aug 10; 343(6):385-91.

Sethia B, Wheatley DJ – Adequacy of perfusion. General review, in Taylor, KM – Cardiopulmonary Bypass, Principles and Management. Ed. Baltimore: William & Wilkins; 1986.

Shils EM, Olson JA, Shike M, Ross AC. Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença. 9th ed. Ed Manole; 2003. 1:257-66.

Souza MHL; Elias DO. Fundamentos da Circulação Extracorpórea. Segunda edição. Rio de Janeiro: Editora Alfa Rio; 2006. P. 35.

Stadtman ER, Oliver CN. Metal-catalyzed oxidation of proteins. Physiological consequences. J Biol Chem. 1991; 266:2005-8.

Stewart JT, Nisbet JA, Davies MJ. Plasma endothelin in coronary venous blood from patients with either stable or unstable angina. Br Heart J. 1991; 66:7-9.

Swain JA. – Endocrine Responses to Cardiopulmonary Bypass. in Utley, J.R. – Pathophysiology and Techniques of Cardiopulmonary Bypass, vol. 1, Ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1982.

Tosukhowong P, Sangwatanaroj S, Jatuporn S, Prapunwattana P, Saengsiri A, Rattanapruks S, Srimahachotab S, Udayachalerm W, Tangkijvanich P. The correlation between markers of oxidative stress and risk factors of coronary artery disease in Thai patients. Clinical Hemorheology and Microcirculation. 2003; 29:321-9.

Thompson JA, Hess ML. The oxygen free radical system: a fundamental mechanism in the production of myocardial necrosis. Prog Cardiovasc Dis. 1986; 28:449-62.

Thomas MK, Narang D, Lakshmy R, Gupta R, Naik N, Maulik SK. Correlation Between Inflammation and Oxidative Stress in Normocholesterolemic Coronary Artery Disease Patients 'on' and 'off' Atorvastatin for Short Time Intervals. *Cardiovascular Drugs and Therapy*. 2006; 20:37-44.

Turnlund JR, Durkin N, Costa F, Margen S. Stable isotope studies of zinc absorption and retention in young and elderly men. *J Nutr*. 1986; 116:239-47.

Valko M, Morris H, Chornin MT. Metals toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem*. 2005; 12:1161-208.

Van der Kraaij AMM, Mostert LJ, Van Eijk HG, Koster JF. Ironload increases the susceptibility of rat hearts to oxygen reperfusion damage. *Circulation*. 1988; 78:442-9.

Vinten-Johansen J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 2004; 61:481-97.

Volpi A, De Vita C, Franzosi MG, Geraci E, Maggioni AP, Mauri F, et al. Determinants of 6-month mortality in survivors of myocardial infarction after thrombolysis. Results of the GISSI-2 data base. The Ad hoc Working Group of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI)-2 Data Base. *Circulation*. 1993 Aug; 88(2):416-29.

Zamparelli R, Carelli G, Pennisi MA, Baruffi E, Schiavello R, Intonti MA, Intonti F. Zinc and copper metabolism during open-heart surgery. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg*. 1986; 20:241-5.

Zhao Z-Q, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang N-P, Guyton RA, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)*. 2003; 285:579-88.