



GEREZ FERNANDES MARTINS

A TRIMETAZIDINA E OS MARCADORES DE INFLAMAÇÃO EM CIRURGIA DE REVASCULARIZAÇÃO DO MIOCÁRDIO COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina (Cardiologia) da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Cardiologia.

Orientador: Prof. Dr. Aristarco Gonçalves de Siqueira Filho

Rio de Janeiro

2012

Ficha catalográfica

A TRIMETAZIDINA E OS MARCADORES DE INFLAMAÇÃO EM CIRURGIA DE REVASCULARIZAÇÃO DO MIOCÁRDIO COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

Gerez Fernandes Martins

Orientador: Prof. Dr. Aristarco Gonçalves de Siqueira Filho

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-graduação em Medicina (Cardiologia) da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Cardiologia.

Aprovada por:

Prof. Dr. Antônio de Pádua Jazbik

Prof. Dr. Henrique Murad

Prof. Dr. Dany David Kruczan

Prof^a. Dr^a. Glauca Maria Moraes de Oliveira

Prof. Dr. Rubens Giambroni Filho

Rio de Janeiro

2012

À memória de meu avô Gerez Martins.

Aos meus pais Gerez e Therezinha.

Aos meus filhos Gerez e Michelle, pela admiração,
incentivo e carinho que sempre demonstraram,
tornando os meus dias mais amenos.

AGRADECIMENTOS

Com ênfase, a todos os pacientes-voluntários participantes do presente estudo, os quais cumpriram rigorosamente todas as exigências necessárias ao método de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Aristarco Siqueira, pela maneira humana com que acolheu este aluno, pelo incentivo constante, pelo modo afável e otimista de convivência, pelas experientes e absolutamente competentes ponderações e sugestões realizadas durante nosso convívio, possibilitando dirimir eventuais dúvidas e contribuir imensamente para o enriquecimento da pesquisa, por ampliar meus horizontes na esfera acadêmica.

Ao Dr. João Bosco de Figueiredo Santos, idealizador da metodologia de coleta de dados, amigo presente de palavras abrangentes, absolutamente simples e extremamente competentes, ouvidas sempre, desde os primeiros momentos das idéias apresentadas, muito antes da realização desta graduação, e prolongadas até o presente momento da conclusão do Curso de Mestrado; exemplo de dedicação à ciência, à pesquisa e ao conhecimento.

Aos Drs. Antônio de Pádua Jazbik, Cláudio Assunção, Daterson Gutierrez, Alberto Valencia, Cezar Augusto Vaz, André Prado Noronha e Roberto Latorre, cirurgiões cardiovasculares que muito me motivaram, e pela presteza na coleta de amostras, imprescindíveis ao estudo, em pleno ato operatório. Pelo respeito e carinho à nossa linha de pesquisa, sem o que seria impossível a conclusão.

À Dra. Francisca Bottino e à sua equipe, exemplos de dedicação e profissionalismo, pela enorme contribuição nesta pesquisa através da qualificada seleção e encaminhamento de pacientes do seu respectivo serviço especializado em doença coronariana.

Aos Drs. Kattia Gerúncio de Carvalho, Graciema Porfírio, Luiz Marina Nunes, Paulo Leal, Laura Maria e Hugo Sabino, ecocardiografistas do Instituto Estadual de Cardiologia Aloysio de Castro, que com os enfermeiros e auxiliares do setor foram incansáveis nos exames desenvolvidos neste estudo.

Ao Dr. Igor Borges de Abrantes Júnior, exemplo de integridade, respeito e conhecimento, no sentido mais amplo, principalmente quanto ao valor do relacionamento com o paciente, pelas palavras de incentivo durante todo o curso de pós-graduação e em minha trajetória profissional, abrindo meus horizontes durante esses anos de convivência.

Ao Prof. Dr. Nelson Souza e Silva, nossa gratidão pela oportunidade do breve, porém rico convívio na Cardiologia do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, pelo aprendizado em cardiologia diferenciado pela excelência da clínica, através dos conhecimentos adquiridos nas excepcionais matérias que tivemos oportunidade de frequentar por sua orientação.

Ao Dr. Washington Maciel, amigo e incentivador, veículo da grande notícia do ano em que tive aprovação no Curso de Mestrado da UFRJ, sempre presente com intenso positivismo, transformando os momentos de incerteza em estímulo.

Ao Dr. Salvador Serra, amigo e conselheiro, que dedicou horas de seu dia à apreciação deste trabalho, sempre com bons conselhos e sugestões. Por suas valiosas observações e paciência frente às insistentes solicitações.

Aos médicos, enfermeiros e técnicos do serviço de pós-operatório do IECAC-RJ, por cooperarem no controle terapêutico dos pacientes, facilitando a coleta de material nas mais diversas horas do dia e da noite.

Aos Drs. José Antônio, Cláudio Galhardo, Márcio Silva Barros, Flavio Souza Ferreira e Guilherme Senna Chelles, anestesistas do IECAC, que acompanharam todo processo desta pesquisa, uniformizando os procedimentos em anestesia nos pacientes e incentivando o prosseguir das etapas que se seguiram, sempre solícitos com o objetivo deste estudo.

À Profa. Dra. Maria do Carmo Lourenço-Gomes, do Centro de Linguística da Universidade de Lisboa, pelas considerações textuais desta tese.

Aos enfermeiros e perfusionistas Jorge Tostes e José Benigno da Silva, meu respeito e admiração pelo belo trabalho desempenhado, ao incentivo constante e interesse pelos resultados deste estudo, cooperando com a padronização das soluções.

Ao Prof. Dr. Alexandre Lourenço Lopes, pesquisador do INPI, pelo acompanhamento do processo de mascaramento e randomização do ensaio clínico, e pela metodologia de seleção aleatória da amostra.

Aos técnicos e funcionários do laboratório de análises clínicas do IECAC-RJ, sempre solícitos na prontificação dos resultados e metodologia da coleta, pelas facilidades oferecidas a este pesquisador em armazenar os materiais em local seguro a qualquer hora.

RESUMO

Fundamento. A resposta inflamatória orgânica constitui um mecanismo fisiopatológico presente em todas as cirurgias de revascularização do miocárdio (CRVM) com e sem circulação extracorpórea. Neste aspecto, o organismo produz suas defesas através de respostas que envolvem as vias humoral e celular.

Objetivos. Avaliar os efeitos da trimetazidina (Tmz) sobre a resposta inflamatória, analisando parcialmente os mecanismos humorais e celulares através das interleucinas 6, 8 e Tnf- α ; complemento C3 e C5; leucócitos totais; neutrófilos e monócitos; e a variação da proteína C reativa ultrasensível (Pcr-u) antes e após a cirurgia.

Delineamento. Estudo prospectivo, duplo-cego, randomizado, controlado com placebo.

Pacientes e Método. Trinta pacientes foram aleatoriamente selecionados e divididos em dois grupos, que receberam medicação ou placebo na dose de 20mg três vezes ao dia, iniciando-se de doze a quinze dias do pré-operatório até cinco a oito dias do pós-operatório. As interleucinas e os complementos foram dosados em quatro momentos: pré-operatório sem medicação, com dez a doze dias de medicação ou placebo, colhidos cinco minutos após o desclameamento aórtico, e nas 12 e 24 horas seguintes. Os leucócitos, neutrófilos e monócitos foram estendidos até 48 h, e a PCR-us foi analisada antes do tratamento e com 48 h de pós-operatório.

Resultados. A interleucina 6 atingiu, nas amostras analisadas por tempo, no grupo tratado em relação ao grupo controle, com valores de significância em 12h: 88,5 + 34,5 vs 119,8 + 52,0 e 24h: 42,4 + 19,4 vs 71,8 + 38,1 ($p=0,012$); a interleucina 8 e o TNF- α não variaram significativamente. Os complementos C3 e C5 variaram em 5 min: 199,4 + 58,1 vs 211,3 + 47,2 e 21,4 + 7,2 vs 23,0 + 3,9; 12h: 120,0 + 20,9 vs 114,0 + 25,1 e 18,1 + 3,4 vs 17,7 + 6,4; 24h: 118,1 + 13,6 vs 124,7 + 31,8 e 15,8 + 4,8 vs 19,7 + 5,7 ($p=0,58$ e $p=0,23$). Os leucócitos totais variaram em 5 min: 13053,0 + 2497,7 vs 15729,0 + 3788,0; 12h: 12980,0 + 2965,3 vs 15149,0 + 3523,6; 24h: 11370,0 + 3444,0 vs 12841,0 + 2943,1; 48h: 9760,0 + 2618,3 vs 10691,0 + 2867,4 ($p=0,012$). Os neutrófilos variaram em 5 min: 10668,0 + 2200,0 vs 12682,0 + 2984,0; 12h: 9879,0 + 3606,0 vs 12841,0 + 3260,7; 24h: 8519,9 + 3052,7 vs 9790,0 \pm 2723,5; 48h: 7211,3 + 2294,3 vs 7223,6 + 2471,3 ($p=0,005$); Os monócitos diferiram apenas em 5 min: 885,9 + 408,2 vs 1166,7 + 397,7 ($p=0,005$); As variáveis analisadas em dois momentos da PCR ultra sensível não variaram significamente entre si no basal e após 48 horas.

Conclusões e implicações clínicas. A Tmz reduziu os níveis de IL6 e de monócito no momento do desclameamento aórtico, e também os leucócitos totais e neutrófilos em todos os momentos analisados. Não houve variações nos valores de IL8, TNF- α , C3, C5 e PCR-us entre os grupos.

ABSTRACT

Background. Organic inflammatory response constitutes a pathophysiological mechanism present in all CRVM with and without extracorporeal circulation. In this aspect, the organism produces its defenses through answers that involve “humoral” and cellular duct.

Objectives. Evaluate the effects of trimetazidine over inflammatory response, partially analyzing the “humorals” and cellular mechanisms through interleukins 6, 8 and Tnf- α , complement C3, C5, total leukocytes, neutrophils and monocytes. As well as the variation of PCR-us in two moments, pre and post surgery.

Delimitation. Prospective, double-blind randomized study, controlled with placebo.

Patients and Method. 30 patients were randomly selected, being 15 from each group, and receiving 20 mg of medication/placebo three times a day, beginning from ten to fifteen days before pre-operative, until five to ten days after post-operative. Interleukins and complement were dosed in four moments: pre-operative without medication, with ten to fifteen days of medication/placebo, harvested five minutes after aortic declamping and in the twelfth and twenty-fourth following hours. The leukocytes, neutrophils and monocytes extended until 48 hours and Pcr-u was analyzed before treatment and with 48 hours of post-operative.

Results. The interleukin 6 obtained significant values in the analyzed samples per time in the treated group in comparison to the control group in 12h: 88,5 + 34,5 vs 119,8 + 52,0 and in 24h: 42,4 + 19,4 vs 71,8 + 38,1 ($p=0,012$); the interleukin 8 and TNF- α did not ranged significantly. The C3 and C5 complements ranged in 5 min: 199,4 + 58,1 vs 211,3 + 47,2 and 21,4 + 7,2 vs 23,0 + 3,9; 12h: 120,0 + 20,9 vs 114,0 + 25,1 and 18,1 + 3,4 vs 17,7 + 6,4; 24h: 118,1 + 13,6 vs 124,7 + 31,8 and 15,8 + 4,8 vs 19,7 + 5,7 ($p=0,58$ e $p=0,23$). The total leukocytes ranged: 5 min: 13053,0 + 2497,7 vs 15729,0 + 3788,0; 12h: 12980,0 + 2965,3 vs 15149,0 + 3523,6; 24h: 11370,0 + 3444,0 vs 12841,0 + 2943,1; 48h: 9760,0 + 2618,3 vs 10691,0 + 2867,4 ($p=0,012$). Neutrophils ranged: 5 min: 10668,0 + 2200,0 vs 12682,0 + 2984,0; 12h: 9879,0 + 3606,0 vs 12841,0 + 3260,7; 24h: 8519,9 + 3052,7 vs 9790,0 \pm 2723,5; in 48h: 7211,3 + 2294,3 vs 7223,6 + 2471,3 ($p=0,005$). The monocytes differed only in 5 min: 885,9 + 408,2 vs 1166,7 + 397,7 ($p=0,005$). The variables analyzed in two moments of the ultra sensitive PCR didn't vary significantly among themselves in the subjacent and after 48 hours.

Conclusions and clinical implications. Trimetazidine has proved to reduce significantly the levels of IL6 and monocyte in the moment of aortic declamping. It also reduced the total leukocytes and neutrophils in every analyzed moment. It kept the curves of IL8, TNF- α , C3 and C5 in the treated group with inferior values, but without statistical significance. And it did not presented variation in PCR.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Metabolismo cardíaco na isquemia cardíaca	24
Figura 2.2 - Formação do ânion superóxido	29
Figura 2.3 - Formação dos radicais hiperóxidos	30
Figura 2.4 - Processos de redução de oxigênio	30
Figura 2.5 - Mecanismo da reperfusão	33
Figura 2.6 - Mecanismos associados à resposta inflamatória na circulação extracorpórea	49
Figura 2.7 - Ativação do sistema de contato pela circulação extracorpórea	50
Figura 2.8 - Ativação da via alternativa pela circulação extracorpórea	54
Figura 2.9 - Estágios da ativação dos neutrófilos	60
Figura 2.10 - Mediadores dos neutrófilos e liberação de grânulos	72
Figura 2.11 - Papel do NF-kB na resposta inflamatória induzida pela circulação extracorpórea	75
Figura 2.12 - Vias de produção de NF-kB e de moléculas de adesão	75
Figura 2.13 - Relação entre injúria de isquemia e inflamação	77
Figura 2.14 - Mecanismo de ação da trimetazidina	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Produtos derivados dos neutrófilos na resposta inflamatória	58
Tabela 5.1 - Perfil geral da amostra segundo o grupo, Tmz e placebo	97
Tabela 5.2 - Distribuição dos medicamentos utilizados nos pacientes segundo os grupos Tmz e Placebo	98
Tabela 5.3 - Distribuição dos pacientes segundo a análise ecocardiográfica pelo índice de contração segmentar nos grupos Tmz e Placebo	98
Tabela 5.4 - Análise das variáveis inflamatórias basais segundo o grupo (Tmz e Placebo)	99
Tabela 5.5 - Análise das variáveis cirúrgicas segundo o grupo (Tmz e Placebo).....	100
Tabela 5.6 - Análise das variáveis clínicas e cirúrgicas segundo a amostra de pacientes tratados com Tmz nos grupos "selecionado" e "não selecionado"	101
Tabela 5.7 - Análise das variáveis clínicas e de tratamento segundo a amostra de pacientes tratados com placebo	102
Tabela 5.8 - Análise longitudinal do C3 (mg/dl) segundo o grupo de tratamento	103
Tabela 5.9 - Análise longitudinal do C5 (mg/dl) segundo o grupo de tratamento	104
Tabela 5.10 - Análise longitudinal do IL6 (pg/ml) segundo o grupo de tratamento	105
Tabela 5.11 - Análise longitudinal do IL8 (pg/ml) segundo o grupo de tratamento	107
Tabela 5.12 - Análise longitudinal do leucócito (u/L) segundo o grupo de tratamento	108
Tabela 5.13 - Análise longitudinal do neutrófilo (u/L) segundo o grupo de tratamento	109
Tabela 5.14 - Análise longitudinal do monócito (u/L) segundo o grupo de tratamento	110
Tabela 5.15 - Análise longitudinal da PCR (mg/L) segundo o grupo de tratamento	111

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 5.1 - C3 ao longo do tempo segundo o grupo de tratamento	104
Gráfico 5.2 - C5 ao longo do tempo segundo o grupo de tratamento	105
Gráfico 5.3 - IL6 ao longo do tempo segundo o grupo de tratamento	106
Gráfico 5.4 - IL8 ao longo do tempo segundo o grupo de tratamento	107
Gráfico 5.5 - Leucócito ao longo do tempo segundo o grupo de tratamento	109
Gráfico 5.6 - Neutrófilo (u/L) ao longo do tempo segundo o grupo de tratamento	110
Gráfico 5.7 - Monócito (u/L) ao longo do tempo segundo o grupo de tratamento	111
Gráfico 5.8 - PCR-u ao longo do tempo segundo o grupo de tratamento	112

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	trifosfato de adenosina
ADO	difosfato de adenosina
AGL	ácidos graxos
AMPc	monofosfato de adenosina cíclico
CpK	Creatinofosfoquinase
CRVM	cirurgia de revascularização do miocárdio
CAT	Catalase
CEC	circulação extracorpórea
CoA	coenzima A
CoQ	coenzima Q
CpK-Mb	creatinofosfoquinase isoforma-Mb
CPT-1	carnitina-palmitoil-transferase
FE	fração de ejeção
GIK	glicoinsulina com potássio
GLUT	transportadores de glicose
ICAM	molécula de adesão intracelular
IL	Interleucina
ICS	índice de contração segmentar
MAC	mebrane attack complex (complexo de ataque à membrana)
MVO2	consumo miocárdico de oxigênio
NADPH+	nicotinamida-adenina-dinucleotideo-fosfato (reduzido)
NADH+	nicotinamida-adenina-dinucleotideo (reduzido)
PTCA	percutaneous transluminal coronary angioplasty
SOD	superóxido desmutase
Tmz	Trimetazidina
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VSF	volume sistólico final
VDF	volume diastólico final
VE	ventrículo esquerdo

ÍNDICE

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO	14
CAPÍTULO 2. REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1 Considerações Iniciais	19
2.2 Isquemia miocárdica	22
2.2.1 Relação isquemia e fluxo coronariano	22
2.2.2 Efeitos da isquemia sobre o metabolismo	23
2.3 Lesão por reperfusão	27
2.3.1 Mecanismos do dano por reperfusão	27
2.3.1.1 <i>O paradoxo do oxigênio e a formação dos radicais livres</i>	28
2.3.1.2 <i>O paradoxo do cálcio</i>	34
2.3.1.3 <i>O paradoxo do próton: o intercâmbio sódio-hidrogênio</i>	36
2.3.1.4 <i>Papel dos ácidos graxos</i>	37
2.4 Mecanismos associados ao dano por reperfusão	38
2.4.1 O papel do potássio	38
2.4.2 O papel dos neutrófilos	38
2.4.3 Disfunção endotelial e óxido nítrico: fenômeno de “não-refluxo” ...	39
2.4.4 Restauração abrupta da pressão osmótica extracelular	39
2.5 A circulação extracorpórea e o sistema de perfusão	40
2.6 Resposta inflamatória em cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea	46
2.6.1 Primeira fase da resposta inflamatória e mecanismos associados	48
2.6.1.1 <i>Resposta humoral</i>	49
2.6.1.2 <i>Resposta celular</i>	56
2.6.2 Segunda fase da resposta inflamatória e mecanismos associado	63
2.6.2.1 <i>Injúria de isquemia e reperfusão</i>	63
2.6.2.2 <i>Endotoxemia</i>	69
2.7 Outros fatores relacionados à resposta inflamatória na circulação extracorpórea	73
2.8 Proteínas de fase aguda	78
2.9 Terapia metabólica	79
2.9.1 Moduladores metabólicos	79
2.9.2 A substância trimetazidina	82
2.9.2.1 <i>Farmacocinética</i>	82
2.9.2.2 <i>Atividade farmacológica</i>	83

2.9.2.3 <i>Tolerância e toxicidade</i>	84
2.9.2.4 <i>Mecanismo de ação específico</i>	84
CAPÍTULO 3. OBJETIVOS	87
3.1 Objetivo Principal	87
3.2 Objetivo Secundário	87
CAPÍTULO 4. METODOLOGIA	88
4.1 Desenho do estudo	88
4.2 Casuística	88
4.3 Critérios de inclusão	89
4.4 Critérios de exclusão	90
4.5 Método	91
4.6 Protocolo	92
4.7 Análise estatística	95
CAPÍTULO 5. RESULTADOS	97
5.1 Caracterização da amostra	97
5.2 Análise das variáveis cirúrgicas das amostras selecionada e não selecionada	100
5.3 Análise longitudinal das variáveis inflamatórias ao longo do tratamento	102
CAPÍTULO 6. DISCUSSÃO	113
6.1 Dos Pacientes e dos Métodos	113
6.2 Dos Resultados	115
6.3 Dos Efeitos Colaterais	131
6.4 Das Limitações do Estudo	131
6.5 Das Implicações Clínicas	131
CAPÍTULO 7. CONCLUSÕES	133
Referências Bibliográficas	137
Anexo 1 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	
Anexo 2 Autorização da Comissão de Ética e Pesquisa (IECAC-RJ)	
Anexo 3 Ficha de Observação Pré e Pós-operatória	
Anexo 4 Ficha de Controle da Droga	
Anexo 5 Ficha Ecocardiográfica de Avaliação Segmentar	
Anexo 6 Ficha de Controle Laboratorial	

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO

A resposta inflamatória sistêmica, presente em toda cirurgia cardiovascular, tornou-se mais exuberante a partir do desenvolvimento do sistema de circulação extracorpórea (CEC), por Jonh Gibbon, nos anos 1950, como consequência da exposição do sangue a um sistema artificial (Larmann & Theilmeier 2004). Em geral, a resposta inflamatória é mediada pela liberação de fatores da resposta imunológica humoral e celular, podendo ser analisados pela ativação, reprodução ou expressão de complementos, trombina, citocinas, neutrófilos, moléculas de adesão (ICAM), mastócitos e outros mediadores que se exteriorizam de várias formas (Levy & Tanaka 2003).

A partir da utilização da CEC, a reperfusão passou a representar marcadamente as alterações orgânicas inflamatórias relacionadas à cirurgia de revascularização do miocárdio - deste ponto em diante, CRVM. A reperfusão é um fenômeno fisiopatológico que pode ocorrer nas síndromes coronarianas em geral, como na angina instável ou vasoespástica, no infarto sem supra e no infarto do miocárdio seguidos ou não de procedimentos como trombólise ou angioplastia, bem como angioplastias eletivas (Artigou et al. 1993; Brasileiro 1997; Pudil et al. 2001a; Bonvini et al. 2005; Kuralay et al. 2006; Gomes et al. 2009).

A fisiopatologia da reperfusão vem chamando a atenção de pesquisadores por suas evidentes e importantes repercussões na prática clínico-cardiológica e tem levado a uma melhor compreensão dos eventos a ela relacionados, em particular a partir dos chamados radicais hiperóxidos, que se formam nas obstruções ao fluxo coronariano e que podem causar a injúria após o desclameamento da aorta na cirurgia cardíaca. Esses radicais hiperóxidos compreendem o ânion superóxido (O_2^-), radical hidroxila (OH) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que podem ser removidos das células por sistemas de enzimas com funções antioxidantes, normalmente presentes na fisiologia miocárdica (Brasileiro 1997; Iskesen et al. 2006).

Os radicais hiperóxidos, em conjunto com os neutrófilos, atuam ativamente na injúria de reperfusão, interagindo em múltiplos sítios e em outros elementos da

cascaata inflamatória, como o sistema complemento, células endoteliais, linfócitos, macrófagos e miócitos. Durante esta agressão, as plaquetas e leucócitos agem através das interleucinas, causando dano direto ao miocárdio (Chakraborti et al. 2000; Laffey et al. 2002; Kaminski et al. 2002; Paparella et al. 2002).

Acompanhando pacientes em pré e pós-operatórios de cirurgia cardíaca por quase vinte anos, em 1999 tivemos a oportunidade de usar a trimetazidina (Tmz) como terapia adicional em pacientes sintomáticos plenamente medicados que aguardavam cirurgia. Observou-se, então, importante redução da dor torácica e da fadiga, o que motivou o início de uma investigação sistemática na literatura sobre a substância.

Os resultados dos diversos ensaios mostrando melhora dos sintomas clínicos e proteção quanto à agressão ao miocárdio durante cirurgias de revascularização, e a ausência de análise extensa relativa à redução da ativação inflamatória com drogas levaram à elaboração de uma primeira pesquisa desenvolvida entre julho de 2007 e agosto de 2008, no Instituto Estadual de Cardiologia Aloysio de Castro, e inserida em linha de pesquisa do Curso de Mestrado e Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina-Cardiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (cf. Martins 2008; Martins et al. 2011).

O objetivo foi avaliar – em estudo prospectivo, duplo-cego randomizado, controlado com placebo – os efeitos da Tmz sobre a injúria de isquemia e reperfusão miocárdica, identificando a variação dos marcadores plasmáticos de agressão miocárdica (troponina T e Cpk-Mb) e as alterações ecocardiográficas da função ventricular. O estudo foi finalizado com sessenta pacientes, divididos em dois grupos (placebo e tratado com Tmz) com, no máximo, disfunção ventricular leve, estratificados por ecocardiografia e recebendo medicação/placebo na dose de 20mg/3x/dia, iniciando-se de doze a quinze dias do pré-operatório até cinco a oito dias do pós-operatório.

A troponina T e a Cpk-Mb foram dosadas no pré-operatório sem medicação, doze a quinze dias de medicação/placebo colhida cinco minutos após o desclameamento aórtico, e nas 12, 24 e 48 horas seguintes. Dentre os resultados, foi observado que

tanto a troponina T, como a CpK-Mb atingiram valores altamente significativos ($p=0,0001$) no grupo tratado, em relação ao grupo controle, nos quatro momentos analisados. As variáveis ecocardiográficas não evidenciaram mudanças evolutivas em cada grupo isoladamente, nem quando comparados em conjunto. O estudo evidenciou a eficácia na redução da injúria de isquemia e reperfusão, sem mostrar qualquer interferência na função ventricular esquerda, nem efeitos colaterais relacionados ao seu emprego.

A presente pesquisa avalia os efeitos da substância Tmz na injúria inflamatória, desencadeada pela CRVM com circulação extarcorpórea (CEC), que envolve os mecanismos de reperfusão miocárdica, a partir da variação dos marcadores plasmáticos de resposta inflamatória (IL6, IL8, Tnf α , C3, C5 e PcR-u) e das variações leucocitárias, bem como de sua evolução no pós-operatório. Para dosagem desses marcadores inflamatórios, foram selecionados aleatoriamente, da amostra do estudo acima referido, 15 pacientes do grupo placebo e 15 do grupo tratado com Tmz.

Outros ensaios ligando a injúria de reperfusão à resposta inflamatória e as poucas publicações sobre a Tmz nesse campo incentivaram a realização desta pesquisa para analisar os seus efeitos sobre a resposta inflamatória na CRVM-CEC (McCord 1987; Wan et al. 1996; Wan et al. 1997; Hammon et al. 2008; Gao et al. 2011).

Com seu mecanismo de ação citoprotetor, a Tmz limita o acúmulo de cálcio e a acidose intracelular, a inflamação e a produção de radicais livres hiperóxidos que ocorrem após reperfusão, sem provocar alterações hemodinâmicas (Tepliakov et al. 2004; Gonzales-Bertomeu et al. 2006).

Alguns estudos evidenciam a ação dos radicais hiperóxidos como um fator de grande relevância na reação inflamatória (McCord 1987; Wan et al. 1997; Zweier & Talukder 2006), e de seus marcadores plasmáticos nos diversos níveis: complementos (Matata et al. 2000; Ascione et al. 2000); interleucinas (Wan et al. 1999b; Savaris et al. 2001); proteína C reativa (Piccoli et al. 2008; Petajã et al. 2001). Outros examinam alterações da injúria de reperfusão sobre os leucócitos

(Hansen et al. 1995; Alexiou et al. 2004; Fung et al. 2008). No entanto, ainda há relativamente poucos estudos com drogas com intuito de analisar seus possíveis efeitos sobre a cascata inflamatória na CRVM com e sem CEC.

Há mais de três décadas, Maroko et al. (1971), em estudo experimental, mostraram a importância de limitar a lesão isquêmica, sugerindo a ocorrência de danos menores da reperfusão pela influência de determinados fármacos na extensão e severidade da necrose miocárdica produzida pela oclusão coronariana, porém sem maiores pretensões no campo da inflamação. Desde então, outros estudos experimentais têm investigado os mecanismos da isquemia e as possibilidades de proteção ao miocárdio, trazendo evidências de que as intervenções terapêuticas ou profiláticas não são totalmente efetivas.

Depois que os mecanismos fisiopatológicos da CEC e da injúria de reperfusão foram bem estabelecidos, houve um importante avanço nas técnicas de proteção miocárdica transoperatória, perceptível pela evolução dos diferentes tipos de solução para a cardioplegia, o que, contudo, não trouxe como benefício a proteção completa dos processos que envolvem a injúria celular e seus efeitos sobre a reação inflamatória (Levy & Tanaka 2003; Malbouisson et al. 2005; Warren et al. 2009a,b).

A proteção miocárdica durante a cirurgia cardíaca envolve um conjunto de estratégias que têm como objetivo reduzir o consumo miocárdico de oxigênio, adequando-o à oferta tecidual momentânea e/ou tornando as células cardíacas mais resistentes a episódios isquêmicos. O propósito é atenuar a magnitude da lesão induzida por episódios de isquemia - e reperfusão - e suas consequências deletérias imediatas e tardias, tais como infarto do miocárdio, disritmias, disfunção ventricular e choque cardiogênico com consequente aumento da mortalidade perioperatória (Ascione et al. 2000; Malbouisson et al. 2005).

Com o objetivo de melhorar a proteção miocárdica durante procedimentos que envolvam injúria de reperfusão, recentemente as atenções voltaram-se para a pesquisa de drogas citoprotetoras com ação em segmentos do metabolismo celular, utilizadas isoladamente ou em associação para reduzir ou prevenir o

dano da célula cardíaca sem a preocupação direta com a resposta orgânica inflamatória. Dentre elas, destacam-se o dicloroacetato; L-carnitina; propionil L-carnitina; ranolanzina; oxfenicina e trimetazidina (Parang et al. 2005; Wolff et al. 2002).

Tritto et al. (2005) evidenciaram em ensaio experimental que a Tmz exerce ação inibidora sobre a ativação dos neutrófilos com redução de seu número na injúria de isquemia e reperfusão, sendo este um indicador inicial da ação inflamatória mediada pelos neutrófilos.

Kuralay et al. (2006) realizaram ensaio duplo-cego randomizado com angioplastia transluminal percutânea (PTCA, *percutaneous transluminal coronary angioplasty*), fornecendo três dias antes do procedimento 60mg de Tmz via oral a um grupo de pacientes e placebo a outro. Foram coletadas amostras em pré-procedimento, e com 4h, 24h e 48h pós-procedimento, analisando-se TNF- α , PCR e produtos do óxido nítrico (nitrito ou nitrato). Os autores verificaram que a PCR, a TNF- α e os níveis de nitrito eram inferiores no grupo tratado, sugerindo uma proteção quanto aos efeitos inflamatórios da reperfusão pela PTCA.

Pudil et al. (2001b) analisaram, em estudo duplo-cego e randomizado, marcadores inflamatórios (PCR, IL6, IL8, Tnf α e ICAM1) em pacientes com até seis horas de infarto agudo submetidos à trombólise com estreptoquinase e tratados com Tmz em bolus com 40mg/IV, seguindo-se com infusão contínua de 60mg por 48h. Os valores da PCR e da IL6 mostraram diferença significativa no grupo tratado em relação ao grupo controle.

Considerando que a Tmz pode apresentar um papel ativo na resposta à inflamação, espera-se que esta pesquisa traga contribuições no campo da proteção miocárdica e da resposta inflamatória em cirurgia cardíaca, tendo em vista especialmente a redução dos efeitos da injúria de reperfusão em pacientes submetidos à CEC.

CAPÍTULO 2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O texto que se segue neste capítulo tem como objetivo apresentar uma breve revisão sobre alguns tópicos importantes para a compreensão do mecanismo de ação da substância trimetazidina (Tmz) nas fases da resposta inflamatória em CRVM-CEC. O metabolismo cardíaco, a isquemia, a formação dos radicais hiperóxidos na reperfusão, o mecanismo da CEC e a evolução da proteína C na fase aguda da resposta inflamatória são apresentados para oferecer ao leitor uma visão sequencial dos mecanismos fisiológicos e fisiopatológicos envolvidos na resposta inflamatória durante e após a CRVM-CEC. Uma revisão mais ampla do metabolismo cardíaco normal, base para compreensão dos efeitos metabólicos da Tmz, pode ser vista, por exemplo, em Martins (2008).

A pesquisa bibliográfica reúne, particularmente, publicações desde o final da década de 1980, quando os estudos sobre a relação entre reperfusão e a resposta inflamatória tomam maior vulto, até a atualidade. Como ponto de partida, consideramos o estudo de Joe McCord (1987) relacionando os radicais superóxidos à resposta inflamatória.

Foram utilizadas as seguintes bases de dados para pesquisa: periódicos Capes, Scielo, Lilacs, Pubmed e Bireme. As palavras-chave usadas na busca incluíram as que se seguem, em inglês, tendo sido utilizadas as mesmas em língua portuguesa: *reperfusion and free radicals; cardiac surgery and reperfusion; ischemic coronary disease and reperfusion; trimetazidine and ischemic cardiomyopathy; ischemic reperfusion injury and treatments; trimetazidine and cardiac surgery; trimetazidine and reperfusion injury in cardiac surgery; myocardial stunning and reperfusion; myocardial protection and reperfusion injury; oxygen-derived free radical; calcium overload and reperfusion injury; trimetazidine and mitochondria; reversible ischemia and reperfusion injury; free fat acid and reperfusion injury; reperfusion injury and mitochondrial damage; reperfusion and oxidative substrate; reperfusion injury and leukocytes; nitric oxide and reperfusion*

ischaemia; biochemical markers and myocardial injury; cardiac surgery and myocardial protection; cardioplegia and cardiac surgery; trimetazidine and metabolic recovery after reperfusion; trimetazidine and cardiac surgery; inflammatory markers; inflammatory markers and heart surgery; off-pump heart surgery and c-reactive protein; cardiopulmonary bypass and inflammation; reperfusion and protein c; cardiopulmonary bypass and c-reactive protein; cardiopulmonary heart surgery and complementary bypass and monocyte; cardiopulmonary bypass and leucocytes; cardiopulmonary bypass and neutrophil; cardiopulmonary bypass and complement; cardiopulmonary bypass and interleukin; coronary artery bypass and inflammation; cardiopulmonary bypass and acute phase proteins; ischaemia and interleukins; cardiac surgery and cytokines; myocardial injury and cytokine; hypothermia and cytokines; inflammatory mediator and endothelium; cardiopulmonary bypass and oxygen free radicals; cardiopulmonary bypass and adhesion molecules; extracorporeal circulation and inflammatory response; aprotinin and ischemia-reperfusion injury; ischemia reperfusion injury and interleukin; ischemia reperfusion injury and complements; ischemia reperfusion injury and neutrophil; reperfusion injury and inflammation; cardiopulmonary bypass and respiratory burst; cardiac surgery and anti-inflammatory strategies; heart surgery and phagocytes; cardiopulmonary bypass and nuclear factor-kB; oxygen free radical and drug therapy; inflammation and nuclear factor kB; neutrophils endothelium and reperfusion injury; hematopoietin receptor and lineage commitment; bone marrow and interleukins; neutrophils and flow cytometry; granulocyte activation and leukocyte; stem cell and complement; cardiac surgery and hematopoiesis; cardiac surgery and stem cell, trimetazidine and neutrophils; trimetazidine and inflammation; trimetazidine triglycerides and endothelin-1; trimetazidine and interleukins; trimetazidine and neutrophils and reperfusion; trimetazidine and inflammation and dilated cardiomyopathy; trimetazidine and endothelin-1; trimetazidine and inflammation and PTCA; trimetazidine and endothelium and myocardial ischemia; trimetazidine and transplant.

A energia necessária para o trabalho do coração pode ser obtida a partir de diferentes substratos, destacando-se entre eles os carboidratos e os ácidos graxos. A interrupção desse aporte sanguíneo, mesmo por curtos períodos,

provoca alteração de vários processos celulares e desencadeia uma série de mecanismos homeostáticos que mantêm as funções metabólicas e reduzem ao mínimo as lesões resultantes (Wolf et al. 2002).

Em contrapartida, o restabelecimento do fluxo sanguíneo nas artérias coronárias pode produzir novas lesões, chamadas lesões de reperfusão, que desencadeiam processos característicos de resposta inflamatória com ativação de mediadores inflamatórios (Park & Lucchesi 1999; Sherman 2003; Santander et al. 2004; Di Napoli et al. 2005).

Até bem pouco tempo, as ações terapêuticas para cardiopatia isquêmica dirigiam-se fundamentalmente para a prevenção da isquemia, modificando os parâmetros hemodinâmicos. Nessa fase inicial, os objetivos do tratamento eram claramente definidos: reduzir a demanda e incrementar o aporte de oxigênio para o miocárdio. Os grupos terapêuticos existentes atendiam a esta dupla necessidade e, em geral, a manifestação clínica do sofrimento miocárdico – crise de angor – podia ser controlada corretamente até desaparecer (Gibbons et al. 2002).

Entretanto, quando não se obtém sucesso com a terapêutica usual através de medidas clínicas – ou seja, na ausência de resposta aos medicamentos e a medidas de suporte – ações intervencionistas adicionais podem ser introduzidas, como o tratamento endovascular (angioplastia com ou sem implante de endoprótese) e a cirurgia de revascularização do miocárdio (Diretriz SBC-DCC 2004).

Sem dúvida, independentemente do estágio evolutivo da cardiopatia isquêmica, do tratamento hemodinâmico administrado e do estado clínico do momento, nenhum paciente coronariano fica totalmente livre do risco de um episódio isquêmico. Do mesmo modo, quando a isquemia se manifesta apesar da terapêutica, cada episódio apresenta um risco potencial de complicações, tais como arritmias, infarto do miocárdio, morte súbita e redução da expectativa de vida do paciente. Em outros termos, mesmo com a terapêutica, a isquemia pode representar risco ao paciente.

Dado que na atualidade não se dispõe de tratamentos nem de intervenções capazes de defender definitivamente os pacientes com doença coronariana de episódios de isquemia, foi introduzida uma nova linha de investigação, centrada na cascata de fenômenos metabólicos que transcorrem entre a isquemia, a injúria de reperfusão e a lesão definitiva da célula miocárdica. Partindo desse conhecimento, essa linha foi denominada agentes metabólicos com ação de “citoproteção miocárdica”, aceita pelas diretrizes quando associada aos agentes terapêuticos usuais (Gibbons et al. 2002; Diretriz SBC-DCC 2004).

Embora ainda aceitas na Diretriz SBC-DCC com nível de evidência inferior ao da maioria das drogas que agem na cascata isquêmica, e com objetivo calcado em seu mecanismo de ação, essas drogas mostram proteger o miocárdio de forma isolada nos pacientes coronarianos, limitando as sequelas da gravidade do evento de isquemia e reperfusão (Moens et al. 2004; Argaud et al. 2005).

A compreensão dos mecanismos que levam à injúria e à morte dos miócitos tem permitido o desenvolvimento dessa linha terapêutica, desenhada para mitigar os processos fisiopatológicos que acompanham a agressão da isquemia e da reperfusão do miocárdio (Buja 2005; Ruixing et al. 2007).

2.2 ISQUEMIA MIOCÁRDICA

2.2.1 Relação isquemia e fluxo coronariano

A isquemia miocárdica é definida como um aporte de oxigênio arterial insuficiente para responder as demandas metabólicas do tecido cardíaco. A origem desse fenômeno é observada na anatomia da grande maioria dos indivíduos por um obstáculo ao fluxo coronariano que leva a uma falta de perfusão miocárdica (García-Dorado & Fernández 1988).

A interrupção no fluxo coronariano acarreta, por um lado, privação de oxigênio e de substratos metabólicos e, por outro, déficit na drenagem venosa e linfática dos metabólitos tóxicos que se acumulam no espaço extracelular da área isquêmica. Esses transtornos tendem a gerar graves consequências em diferentes níveis.

Logo após o início da isquemia, ocorre o comprometimento metabólico, com consequentes alterações da atividade elétrica, assim como da função contrátil da célula cardíaca, que se agrava progressivamente até uma possível morte celular (García-Dorado & Fernández 1988).

Os determinantes do dano isquêmico ao coração incluem a gravidade, a duração e a sequência temporal da isquemia, assim como o estado físico e metabólico, tais como hipotermia ou normotermia, conteúdo miocárdico de glicogênio e altas ou baixas concentrações de ácidos graxos livres. Cada um desses fatores pode ser modificado para reduzir a extensão das consequências deletérias da isquemia. Desse modo, observa-se que a obstrução completa do fluxo sanguíneo coronariano condiciona a depleção dos fosfatos de alta energia, o acúmulo de lactato e a acinesia, que quando persistente leva à necrose do tecido (Taegtmeyer et al. 1998).

Na condição de redução do fluxo coronariano de grau moderado (entre 20% e 60%), observa-se diminuição de 10% a 50% do consumo miocárdico de oxigênio, com incremento transitório da glicólise anaeróbia, depleção de glicogênio, produção de lactato e redução da oxidação de ácidos graxos, levando à disfunção contrátil, que pode variar de moderada a grave. Dependendo das demandas metabólicas do momento, reduções do fluxo coronariano podem não conduzir, necessariamente, ao dano tissular irreversível (Ferrari et al. 1998).

A fisiopatologia da isquemia torna-se importante por estar relacionada à ação da Tmz, que será descrita na seção 2.9.2. É conveniente recordar que a função contrátil do coração depende primordialmente do abastecimento de ATP pelas mitocôndrias (fosforilação oxidativa). Essa importante via metabólica é controlada principalmente pela disponibilidade de ADP, NADH, piruvato e ácidos graxos e pela ativação do ciclo de Krebs pelo Ca^{++} (Moreno-Sanchez & Torres-Marques 1991).

2.2.2 Efeitos da isquemia sobre o metabolismo

A ausência de oxigênio e substratos oxidáveis durante a isquemia provoca a

diminuição da atividade da cadeia respiratória, sendo este o mecanismo pelo qual a síntese de ATP é reduzida. A interrupção do fluxo coronariano provoca diminuição do aporte de oxigênio em nível celular, o que conduz a uma depressão da via aeróbica do metabolismo da glicose pela betaoxidação mitocondrial. Para aumentar as fontes energéticas, um desvio para o metabolismo anaeróbio com ativação da glicogenólise é produzido por ação fundamentalmente do AMPc, favorecida *in vivo* pela estimulação simpática através de aumento da atividade da enzima piruvato-quinase (Figura 2.1).



Figura 2.1 - Metabolismo cardíaco na isquemia cardíaca. Fonte: Banani et al. (1998)

O aumento da glicólise anaeróbica é insuficiente para suprir as necessidades energéticas da célula miocárdica e chega a multiplicar seu ritmo em mais de vinte vezes durante o primeiro minuto de estado anaeróbio, resultando em grande aumento da produção de piruvato e lactato (Lopaschuk 1999).

Essa via metabólica leva a uma queda no pH citosólico, que se estabiliza nos primeiros dez minutos, e a perpetuação do metabolismo anaeróbio tem como consequência a produção final de uma pequena quantidade de ATP (Schwartz et al. 1990).

Apesar da diminuição da produção de ATP desde os primeiros segundos de estado anaeróbio, sua concentração citoplasmática é mantida graças à refosforilação de ADP, produzido mediante utilização do radical fosfato (P) da

creatinofosfato em uma reação catalizada pela creatinoquinase (CK). Esse mecanismo diminui os níveis de fosfocreatina a valores que vão de 40% a 60% dos níveis basais (Schwartz et al. 1990).

Mesmo com níveis de ATP estáveis nos momentos iniciais da isquemia, a função contrátil se torna deprimida e após 15 minutos de oclusão verifica-se uma redução de aproximadamente 50% das reservas de ATP (Braasch et al. 1968). Com a queda da concentração de ATP, podem ser observados aumentos na concentração de ADP e fósforo inorgânico, e de AMP, que se metaboliza pela via adenosina-hipoxantina (Jennings et al. 1987).

A degradação dos nucleosídeos dá lugar à adenosina e ao seu metabólito, a hipoxantina, que, por sua vez, é transformada em xantina pela ação da enzima xantino-oxidase, produzindo radicais livres de oxigênio, o “ânion superóxido” (McCord 1987; Bolli 1990).

À medida que a isquemia se prolonga, ocorre redução no pH intracelular e um progressivo aumento na pressão de repouso, levando ao sofrimento do miocárdico. O aumento precoce do lactato é seguido por um decréscimo concomitante e progressivo do conteúdo de ATP e creatinofosfato. O aumento precoce do lactato e o conseqüente decréscimo do ATP e creatinofosfato, gerado pelo início da glicólise anaeróbica, pode ser inibido quando níveis elevados de acidose intracelular são atingidos. Profundas mudanças iônicas então ocorrem, como a depleção de potássio e magnésio intracelular e o aumento do sódio e do cálcio citosólicos (Lopaschuk et al. 2000).

Em isquemias com duração inferior a vinte minutos e após a reperfusão, os níveis de fosfocreatina, fósforo inorgânico e pH se recuperam em poucos minutos, sendo que a normalização do ATP aos seus níveis basais torna-se mais lenta (Camacho et al. 1988).

Tem sido sugerido que durante a isquemia ocorre desaceleração da beta-oxidação dos ácidos-graxos, levando à diminuição da carnitina livre e ao acúmulo extramitocondrial dos produtos intermediários do metabolismo lipídico, como acil-

coenzima A e acil-carnitina (Reeves et al. 1989). A acil-carnitina inibe a bomba de Ca^{++} do retículo sarcoplasmático e as trocas de $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{+}$ do sarcolema, bem como a bomba de Na^{+} , podendo ativar também os canais de Ca^{++} e incrementar os níveis de AMP cíclico. Essas ações podem produzir sobrecarga celular de cálcio, maior consumo de oxigênio e desencadeamento de arritmias (Apstein 1999).

O aumento da concentração de acil-coenzima A tem quatro efeitos importantes: (a) favorece a síntese e o acúmulo de triglicerídeos no citoplasma, em combinação com o aumento concomitante da síntese de glicerol (produto secundário da glicólise); (b) diminui a atividade da adenil-nucleotídeo-translocase, contribuindo para diminuição dos níveis de fosfocreatina e ATP; (c) diminui a esterificação dos ácidos graxos livres e, portanto, sua captação, apesar da concentração destes aumentarem, finalmente, como consequência da lipólise, que provoca ativação da fosfolipase A^2 , pelo aumento do nível de cálcio citoplasmático; (d) inibe a oxidação dos carboidratos, agravando, assim, a acidose celular, pelo acúmulo do lactato e de H^{+} , vindo a sobrecarregar a célula de cálcio (Schelbert & Buxton 1988).

O infarto do miocárdio, a cirurgia cardíaca ou um episódio de isquemia-reperfusão ocasionam aumento nos níveis de ácidos graxos circulantes (Lopaschuk et al. 2010), sendo seus efeitos deletérios, mecânicos e eletrofisiológicos, conhecidos há mais de vinte anos (Olivier et al. 1968).

A degradação dos fosfolipídeos pode lesar o sarcolema, por si mesma ou por aumentar a concentração de lisofosfolipídeos, produtos da fragmentação dos fosfolipídeos com propriedades lesivas, que podem penetrar nas membranas celulares, alterando sua estrutura.

Existem outros mecanismos capazes de lesar os fosfolipídeos da membrana durante o episódio de isquemia, destacando-se entre eles, a ação dos radicais livres de oxigênio. Todos esses fenômenos contribuem para desorganizar e debilitar a estrutura das membranas e favorecem os desequilíbrios iônicos e a perda da homeostase celular (Brasileiro 1997).

No que tange a resultados clínicos e laboratoriais, alguns investigadores têm observado liberação de creatinoquinase e de sua isoenzima CpK-Mb, assim como da troponina T no sangue periférico, desencadeada por curtos períodos de isquemia, mesmo na ausência de necrose celular. Quando esses efeitos sobre o miocárdio são avaliados em procedimentos com curtos períodos de isquemia seguidos de reperfusão, como na PTCA ou na CRVM, com e sem CEC, a resposta inflamatória pode ser analisada em conjunto, através de marcadores séricos (Heyndrickx et al. 1975; Capdevila et al. 2001; Kuralay et al. 2006; Serrano et al. 2010).

2.3 LESÃO POR REPERFUSÃO

Nos últimos anos, a lesão por reperfusão, ou injúria de isquemia e reperfusão, tem encorajado estudos em busca de procedimentos que permitam minimizar as agressões após restabelecimento do fluxo sanguíneo nas artérias coronarianas, que, quando ocluídas, levam à isquemia (Moens et al. 2004).

Estudos experimentais sugerem que a reperfusão de áreas isquêmicas, além de salvar células miocárdicas em risco, também produzem aceleração das mudanças estruturais que se associam à morte celular (Ruixing et al. 2007). Essas observações foram direcionadas ao campo da CRVM-CEC, quando se verificou que a presença de disfunção contrátil do coração poderia ocorrer após o restabelecimento da circulação coronariana (Maxwell & Lip 1997; Lerch 1993).

Em 1983, Rosenckraz e Buckberg estabeleceram o conceito de “dano menor ou isquemia e reperfusão”, no qual diversos mecanismos diminuem o êxito na reperfusão cirúrgica do miocárdio, podendo gerar danos funcionais e estruturais durante o restabelecimento do fluxo sanguíneo de uma artéria previamente ocluída.

2.3.1 Mecanismos do dano por reperfusão

A oclusão de artéria coronária provoca diversas alterações celulares no tecido isquêmico, levando progressivamente desde o déficit estrutural irreversível até à

morte celular. Se a reperfusão ocorre antes de o dano se tornar irreversível, a célula ainda pode ser recuperada. Contudo, algumas células miocárdicas sofrem um dano maior, sendo esta consequência manifestada por arritmias e déficit contrátil, reversível ou irreversível. Esse dano condicionado pela reperfusão tem diferentes hipóteses, sendo as principais o aumento brusco de oxigênio e de cálcio (Piper et al. 1998).

As teorias mais aceitas para explicar o fenômeno de injúria de isquemia e reperfusão são conhecidas como “Paradoxo do Cálcio” e “Paradoxo do Oxigênio”, ou “Hipótese Oxiradical”. A primeira procura explicar todas as alterações celulares por um maior influxo de cálcio ao interior da célula no momento da reperfusão. A segunda baseia-se nas alterações do chamado “estresse oxidativo”, correspondendo à teoria mais difundida (Maxwell & Lip 1997), e será abordada com maior ênfase a seguir, por seu importante papel na resposta inflamatória (McCord 1987; Biglioli et al. 2003).

2.3.1.1 O paradoxo do oxigênio e a formação dos radicais livres

Denominam-se radicais livres todas as moléculas que têm um elétron desapareado em sua órbita mais externa. Tal circunstância lhes confere uma capacidade de reação muito elevada, por atuarem nos sistemas biológicos com grande avides, produzindo mudanças na conformação química ou na estrutura dos elementos celulares, tornando-os incompatíveis com a vida. Entre os radicais livres com relevância biológica, os que derivam do oxigênio têm peculiar importância e são produzidos de forma escalonada quando um átomo faz a captação de 1, 2 ou 3 elétrons por molécula de oxigênio (Maupoil et al. 1993; Brasileiro 1997).

Essa captação de um elétron por um átomo recebe a denominação de "redução deste átomo". Quando ele doa um elétron, diz-se que ocorreu "oxidação deste átomo". Na representação da molécula de oxigênio com seus dois átomos, observa-se que eles tendem a se unir para formar oito elétrons em sua órbita externa, obedecendo a “regra do octeto” (Figura 2.2). No caso de ocorrer adição de um elétron na órbita externa de um dos dois átomos da molécula de oxigênio, esta passa a ter um elétron ímpar (ou não pareado) naquela órbita. Desse modo,

através de uma “redução” foi formado o ânion superóxido, o mais comum entre todos os radicais livres (Brasileiro 1997).

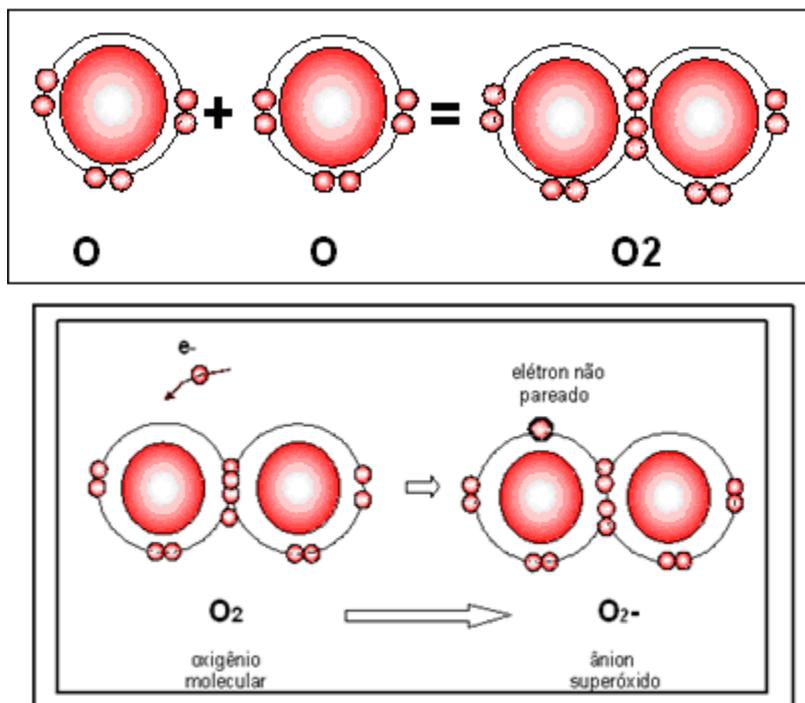


Figura 2.2 - Formação do ânion superóxido. Fonte: Brasileiro (1997, p. 82)

Em condições normais, a maior parte do oxigênio molecular (95%) é reduzida por sistemas intracelulares, tal como o complexo citocromo-oxidase localizado na mitocôndria, para participar da produção de energia no ciclo de Krebs, quando sofre um processo de “redução”, até formar dióxido de carbono (CO₂) e água, sendo eliminado do organismo sem causar qualquer problema. Por outro lado, uma pequena parte (5%) escapa dessa via metabólica, sofrendo “redução” e gerando produtos tóxicos intermediários como o ânion superóxido (Maupoil et al. 1993, Brasileiro 1997).

A captação do primeiro elétron dá lugar à formação do ânion superóxido (O₂⁻), que, ao receber um segundo elétron em presença de água (H₂O), resulta na síntese do peróxido de hidrogênio (H₂O₂), composto oxidante que não é um radical livre, mas captando um terceiro elétron forma, em presença de água, grupo hidroxila (OH⁻), que além de ser um radical livre, é um potente oxidante, como pode ser visto na Figura 2.3 (Maupoil et al. 1993; García-Dorado &

Fernández 1988).

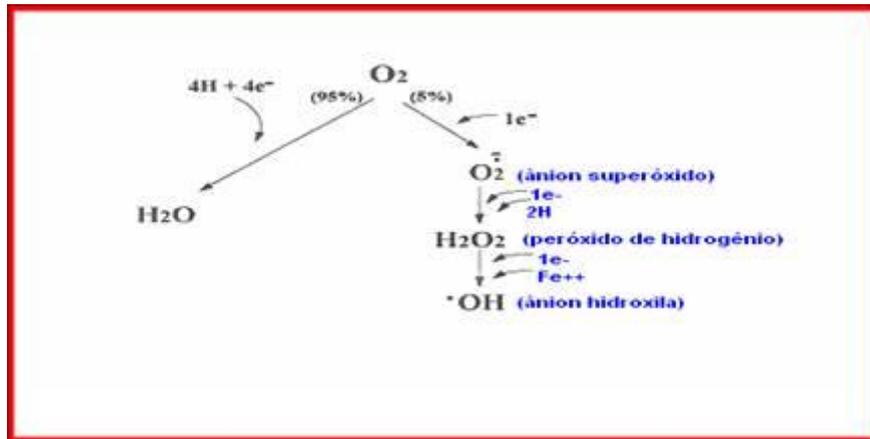


Figura 2.3 - Formação dos radicais hiperóxidos. Fonte: Brasileiro (1997, p. 83)

Para melhor compreensão desse conjunto de ações, é necessário saber que o processo de redução não é sempre igual. O oxigênio pode ser reduzido de dois modos diferentes (Figura 2.4):

- (1) Redução Tetraivalente: através do ganho simultâneo de quatro elétrons. Ocorre com 95% do oxigênio que entra na célula, resultando em $CO_2 + H_2O$.
- (2) Redução Monoivalente: através do ganho de um elétron de cada vez, formando radicais livres (pois terão elétrons não pareados). Ocorre com os 5% de oxigênio restantes.

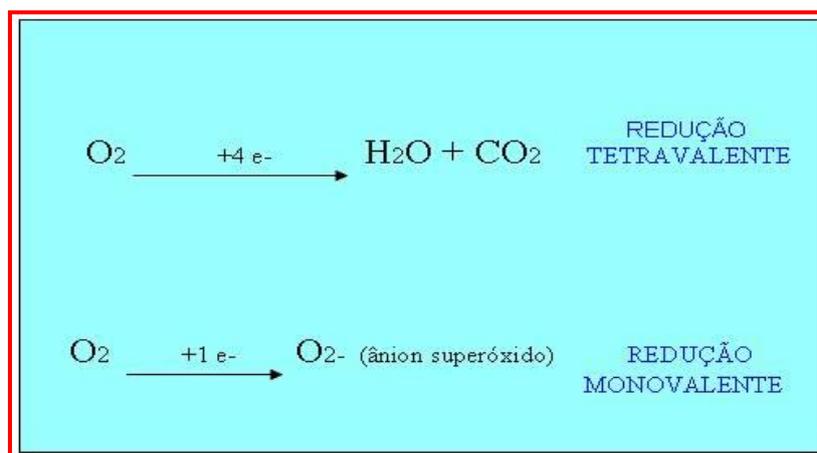


Figura 2.4 - Processos de redução de oxigênio. Fonte: Brasileiro (1997, p. 83)

Os radicais livres são neutralizados rapidamente por enzimas endógenas chamadas "varredores de radicais livres". O peróxido de hidrogênio é reduzido por catalazes intracelulares, enquanto a enzima superóxido desmutase (SOD) age sobre o radical superóxido, mediante reação direta. Existem outros mecanismos antioxidantes, chamados endógenos, que envolvem vitaminas, tais como a vitamina E, a vitamina A e o ácido ascórbico, estando os dois primeiros localizados na membrana celular, e o último no citosol (Brasileiro 1997).

O miocárdio aeróbico é capaz de manejar e sobreviver à contínua produção de radicais livres derivados do oxigênio graças à existência de um delicado balanço entre os sistemas celulares que geram os agentes oxidantes e aqueles que mantêm o mecanismo defensivo antioxidante (Maupoil et al. 1993; Brasileiro 1997).

Durante o mecanismo de isquemia-reperfusão, diversas alterações metabólicas são produzidas e condicionam o aumento na produção de radicais livres (Myers et al. 1985; Maupoil et al. 1993). São elas:

- Redução dos componentes da cadeia respiratória como citocromo C1
- Aumento de AMP e de seus metabólitos (adenosina, inosina e hipoxantina), com ativação da xantino-oxidase durante a isquemia por proteases cálcio-dependentes, constitui uma fonte de ânions superóxido e peróxido de hidrogênio na conversão de hipoxantina em xantina e seu posterior metabolismo
- Alterações do metabolismo dos lipídeos, em especial a ativação de fosfolipases pela acumulação de Ca^{++} citosólico, podem induzir liberação de ácido aracdônico, o que estimula o metabolismo deste ácido à formação concomitante de radicais livres pela cicloxigenase
- Acumulação de equivalentes redutores durante a isquemia, como NADH, NADPH, flavoproteínas e lactato, que podem reagir com o oxigênio, induzindo a formação de radicais livres
- As catecolaminas liberadas durante a reperfusão podem contribuir na formação de radicais livres já que por auto-oxidação geram períodos e

compostos da oxidação de radicais (adrenocromos)

- O processo inflamatório, em especial a ativação dos neutrófilos, constitui uma fonte de radicais livres. Essas substâncias podem induzir a formação de fatores quimiotáticos que provocam acúmulo de neutrófilos e sua ativação
- A formação de agregados e o aumento da permeabilidade vascular favorecem o aparecimento de edema, alterando a microcirculação e exacerbando o processo isquêmico
- A lise de hemácias presente nos capilares libera derivados do ferro, que favorece a formação de radicais livres
- A produção de radicais livres pela célula endotelial também tem sido documentada (Welbourn et al. 1991)

A queda progressiva dos sistemas de defesa encarregados da eliminação dos radicais livres contribui para o acúmulo progressivo desses compostos. Tem sido observada uma diminuição da atividade do SOD durante a hipóxia em até 50% nas isquemias severas, evidenciando que sua redução ocorre por aumento de consumo, reduzindo a produção de radicais hiperóxidos durante a reperfusão e prevenindo a injúria miocárdica (Tomoda et al. 1996). Por outro lado, radicais hiperóxidos inativam enzimas encarregadas pela degradação do peróxido de hidrogênio (glutamil peroxidase e catalase). Apesar das alterações nos sistemas de defesa enzimáticos aparecerem quando eles são submetidos a períodos longos de isquemia e reperfusão, a diminuição de apenas um de seus componentes pode levar a uma perturbação de todas as defesas enzimáticas (Myers et al. 1985).

A debilidade dos sistemas de defesa não enzimáticos, em especial os níveis das vitaminas E e C, poderia igualmente cooperar para o acúmulo de radicais livres. Durante a reperfusão, o restabelecimento da disponibilidade de oxigênio incrementa a redução e formação desses metabolitos tóxicos.

Henry et al. (1990), mediante técnicas específicas por imunofluorescência química para avaliar a atividade dos radicais livres, observaram que, em corações submetidos a períodos breves de isquemia (15 min), a produção concentrações de radicais de oxigênio durante a oclusão coronariana é baixa, com aumento súbito no momento da reperfusão. Porém, avaliando a origem da produção dos radicais livres hiperóxidos, diferentes propostas são encontradas. As que se relacionam ao interior do miócito, incluindo a mitocôndria; à xantina/xantina-oxidase; a reações envolvendo formas de mioglobina oxidada e a outros processos enzimáticos.

As células endoteliais são também potentes geradores de radicais hiperóxidos, assim como os leucócitos, sendo estes modestos em relação à produção gerada pelos miócitos ou células endoteliais.

Utilizando a mesma metodologia, Burton (1988) demonstrou que a administração de produtos intermediários reativos do oxigênio - como o peróxido de hidrogênio - para gerar radicais livres - assim como a hipoxantina mais a xantina oxidase, ou como o ferro - desencadeava reduções rápidas e graves da função contrátil e mudanças em diversos parâmetros eletrofisiológicos (Figura 2.5).

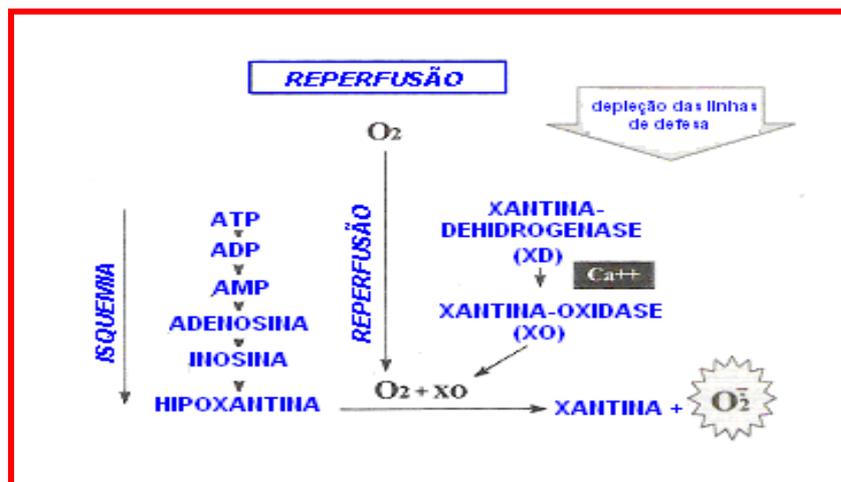


Figura 2.5 - Mecanismo da reperfusão. Fonte: Brasileiro (1997, p. 86)

Os três principais mecanismos de dano causado pelos radicais livres são a peroxidação lipídica, a oxidação das proteínas e a ruptura do ADN. A peroxidação lipídica das membranas produz um dano tanto estrutural quanto funcional, em

razão do aumento da permeabilidade da membrana ao cálcio e ao sódio, levando ao incremento do cálcio intracelular (citosol e mitocôndria), que progride até danificar o miócito.

Outro mecanismo de lesão em consequência da reperfusão é a formação de endoperóxidos como resultado da ação de radicais livres derivados do oxigênio. A produção desses produtos metabólicos favorece a produção de eicosanoides pela via da lipoxigenase e cicloxigenase (Ferez et al. 1998; Fang et al. 2008).

A consequência final de todas as etapas metabólicas desencadeadas pela reperfusão em um período de isquemia pode ter início nos fenômenos inflamatórios. Esse processo provocaria edema e acúmulo de leucócitos, que potencializariam os fenômenos isquêmicos, fechando o círculo vicioso (McCord 1987).

Lazzarino et al. (1994) apontam que resultados durante a realização de CRVM evidenciam a presença de marcadores indiretos da produção de radicais livres em nível do seio coronariano, tais como melonaldeído, ácido úrico, adenosina, hipoxantina e xantina, que traduzem a peroxidação lipídica, assim como a degradação da adenina-nucleotídeo do miocárdio, mesmo com períodos curtos de clampeamento da aorta.

2.3.1.2 O paradoxo do cálcio

O chamado "paradoxo do cálcio", descrito por Zimmermann & Hulsmann (1966), procura explicar o severo dano celular caracterizado por uma marcada liberação de enzimas miocárdicas e pela formação de vesículas intracelulares, bolhas subsarcolêmicas, e as denominadas "bandas de contração" após a reintrodução do cálcio durante a fase de reperfusão. Na membrana celular existem vários mecanismos que regulam o cálcio citosólico, destacando-se entre eles os de entrada de Ca^{++} na célula: (a) o gradiente de Ca^{++} ; (b) a bomba de Na^+/Ca^{++} ; e (c) a difusão passiva de Ca^{++} .

Para evitar o acúmulo citosólico do íon, existem mecanismos de saída ao exterior

da célula, sendo os mais importantes: (a) o fluxo de Ca^{++} através da bomba de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$, reversível e dependente de gradiente e concentrações no potencial de membrana, e (b) uma bomba de cálcio ativa situada na membrana e ATP-dependente. Para que a função celular permaneça normal, deve existir um fino equilíbrio entre todos esses mecanismos (Zimmerman & Hulsman 1966).

Na privação de oxigênio durante a isquemia, ocorre diminuição dos níveis celulares de ATP e um incremento do fosfato, o que limita a saída do cálcio da célula e favorece o acúmulo do mesmo em seu interior. Dessa maneira, perde-se a capacidade para restabelecer a homeostasia do cálcio. Esse aumento citosólico de Ca^{++} resulta em dessensibilização relativa das miofibrilas, provavelmente devido à degradação das mesmas pela dependência deste íon (Soei et al. 1994).

Durante a reperfusão, o cálcio livre no citosol aumenta excessivamente a níveis supranormais com a entrada de Ca^{++} externo através dos canais de cálcio e da bomba de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$, bem como pela liberação de Ca^{++} de depósitos intracelulares, ocasionada pela estimulação de receptores B-adrenérgicos (Opie & Dphil 1989).

Em condições normais, o Na^+ não se difunde através dos canais de cálcio, mas a favor de seu gradiente eletroquímico, provavelmente devido ao fato de esses, juntamente com os íons K^+ , estarem permanentemente ocupados com mais de um átomo de Ca^{++} , que conseqüentemente ativam a abertura dos canais de K^+ através da membrana celular, tornando esta mais resistente à subsequente despolarização (Carafoli & Pennison 1986).

De acordo com esse modelo, há um momento durante a privação de Ca^{++} em que o canal fica livre de Ca^{++} e permeável ao Na^+ . A entrada de Na^+ , mediante sua concentração intracelular, aumenta de modo importante e, ao se reinstaurar a reperfusão com Ca^{++} , entram em ação os mediadores da troca de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$, levando a uma rápida entrada de Ca^{++} no citoplasma, que não pode ser absorvido pelo retículo sarcoplasmático nem pelas mitocôndrias. Apesar da capacitação de mobilizar importantes quantidades de Ca^{++} , sua elevação citoplasmática dispara todos os mecanismos nos quais o Ca^{++} é o mensageiro,

produzindo a hipercontração e a morte celular (Hess & Manson 1984; Persad et al. 1995).

Os mecanismos exatos mediante os quais se produz uma entrada maciça de cálcio durante a reperfusão não estão determinados com exatidão, mas é muito provável que as alterações nos sistemas de transporte do sarcolema sejam responsáveis pelo acúmulo de cálcio. Essa entrada incontrolada produz ativação de fosfolipases e proteases, que ocasionan dano em nível do citoesqueleto e das membranas celulares, favorecendo também a produção de radicais livres derivados do oxigênio (Piper et al. 1998).

Alguns estudos têm demonstrado que a reoxigenação está associada à diminuição da eficiência de elétrons no nível de NADH-CoQ oxireductase (sítio 1 da cadeia respiratória) na membrana interna mitocondrial, além de um incremento no conteúdo de cálcio mitocondrial. Esse incremento pode ser danoso para a mitocôndria, por induzir uma marcada diminuição da fosforilação oxidativa, sendo então especulado que a morte celular ocorre quando a sobrecarga de cálcio produz a falência mitocondrial na produção de ATP (Moreno-Sanchez 1985).

A melhor base para a hipótese de que a entrada de cálcio na célula contribui para a produção da disfunção pós-isquêmica são os estudos com bloqueadores dos canais de cálcio, com doses que não afetam a hemodinâmica periférica, nem o fluxo regional miocárdico e que mostram melhora da função do miocárdio atordado (Manchandra & Krishnaswami 1997).

2.3.1.3 O paradoxo do próton: o intercâmbio sódio-hidrogênio

O intercâmbio sódio-hidrogênio é um mecanismo intermediário que produz aumento do cálcio intracelular durante a reperfusão. Esse modelo postula que, durante a isquemia na célula, mecanismos anaeróbios são postos em marcha e geram ácido láctico, com conseqüente produção de íons hidrogênio e desenvolvimento de acidose intracelular. Essa acidose tem um importante efeito inotrópico negativo, levando a célula miocárdica a recorrer a vários mecanismos para manter o pH intracelular. Um deles é o intercâmbio de Na^+/H^+ da membrana

plasmática, que se ativa por aumento de hidrogênio, com a finalidade de retirá-los do interior da célula. Dessa maneira, ocorre aumento na concentração intracelular de sódio, que estimula a atividade do intercâmbio $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ e induz um aumento na concentração de Ca^{++} no citosol, favorecendo a injúria por reperfusão (Karmazin 1996).

2.3.1.4 Papel dos ácidos graxos

O incremento dos níveis de ácido graxos tem se mostrado tóxico para o miocárdio isquêmico, estando associado ao aumento do dano da membrana, arritmias e aceleração da deterioração funcional. Durante a reperfusão, a oxidação dos ácidos graxos pode recuperar-se rapidamente e dominar como fonte de produção de ATP, proporcionando mais de 95% das necessidades energéticas do coração. Em parte, o complexo piruvato-desidrogenase é inibido pelas altas taxas de ácidos graxos, o que resulta na diminuição entre a relação de oxidação da glicose e glicólise (Apstein 1999; Lerch 1993).

Durante a isquemia e a reperfusão, os níveis de malonyl-CoA também decrescem, resultando em incremento da atividade carnitina-palmitol-transferase (CPT-1). Na reperfusão, o incremento da CPT-1, junto aos altos níveis de ácidos graxos que decorrem dos episódios isquêmicos, favorece a oxidação desses ácidos graxos como fonte principal.

Como resultado da isquemia, a oxidação da glicose permanece deprimida, a produção de prótons pelo metabolismo da glicólise anaeróbica aumenta e o consumo relativo de oxigênio para realizar a contração cardíaca se eleva. Esse conjunto leva à diminuição da eficiência cardíaca durante a reperfusão (Lopaschuk 1999).

O desequilíbrio relativo entre oxidação da glicose e os ácidos graxos durante a isquemia pode ser um importante fator na origem da disfunção miocárdica. A estimulação da oxidação da glicose durante a reperfusão é capaz de aumentar a eficiência cardíaca, com melhora paralela da função cardíaca (Liu et al. 1996).

Uma maneira de diminuir o metabolismo dos ácidos graxos e aumentar a metabolização da glicose é diminuir os níveis circulantes de ácidos graxos como, por exemplo, a utilização de soluções de glicose com insulina (Lazar et al. 1997).

2.4 MECANISMOS ASSOCIADOS AO DANO POR REPERFUSÃO

2.4.1 O papel do potássio

Estudos têm mostrado uma diminuição significativa do potássio intracelular durante a fase de isquemia com conseqüente aumento do potássio extracelular. Essas mudanças na homeostase do K⁺, nos primeiros segundos da isquemia, é um fator a ser considerado na arritmogênese produzida na reperfusão (Harris 1966; Cole et al. 1991).

Assim sendo, o mecanismo pelo qual a célula perde K⁺ tem sido objeto de diversos estudos. Há mais de uma década, foi postulado que níveis baixos de ATP no tecido pós-isquêmico poderiam contribuir para abertura dos canais de K⁺ ATP reguladores, encurtando a duração do potencial de ação, e preservando os níveis de ATP miocárdico, protegendo o coração contra a isquemia severa. Esse encurtamento na duração do potencial de ação também diminui o tempo de entrada de Ca⁺⁺ para o interior da célula e limita o dano por sobrecarga de Ca⁺⁺ (Noma 1983).

2.4.2 O papel dos neutrófilos

Hansen (1995) observou que após um período de isquemia miocárdica, a região afetada mostra achados característicos de resposta inflamatória. Essa resposta inclui infiltração celular e edema, sendo o acúmulo de neutrófilos um dos processos mais precoces. Os neutrófilos são atraídos ao meio isquêmico, ou reperfundidos por meio de substâncias quimiotáticas específicas, como, por exemplo, por componentes do complemento C3 e C5 ativados e pela interleucina-8, que, por sua vez, ativa e promove a migração dos neutrófilos para o exterior dos vasos.

Os neutrófilos se unem às células miocárdicas através de moléculas denominadas "moléculas de adesão", sendo uma delas a ICAM-1 (*intercelular adhesion molecule*), que aparece na superfície dos miócitos como resultado da sua estimulação pela Inteleucina-6 (IL-6). Em alguns estudos, foi observado um rápido e sustentado aumento na produção de IL-6 e de seu receptor após um breve período de isquemia, o que sugere que esses mecanismos podem participar na resposta inflamatória no local da isquemia de reperfusão (Kukielka et al. 1995; Chandrashekar et al. 1999; Park & Lucchesi 1999). Os neutrófilos e monócitos ativados, levados ao miocárdio durante a reperfusão, liberam substâncias tóxicas para as células do miocárdio, incluindo radicais livres derivados de oxigênio, proteases, elastases e colagenases (Hansen 1995).

2.4.3 Disfunção endotelial e óxido nítrico: fenômeno de “não-refluxo”

O óxido nítrico sintetizado a partir do aminoácido L-arginina, possui papel importante na regulação do tono vascular, sendo chamado “fator relaxante derivado do endotélio”. Essa substância tem um papel controverso na produção do dano por reperfusão (Nonami 1997). Por um lado, propõe-se que sua ausência contribui para o dano por reperfusão, especificamente no fenômeno de “não-refluxo”, por aumentar o tono vascular coronariano, e, por outro, que ela se relaciona ao incremento da adesividade dos neutrófilos ao endotélio vascular com consequente dano celular (Williams et al. 1995). Contudo, existem evidências de que o óxido nítrico pode causar dano miocárdico durante a reperfusão, através de vários mecanismos, dentre eles a formação de radicais livres como o peróxidonitrito (Schulz & Wambolot 1995; Zweier & Talukder 2006; Park & Lucchesi 1999).

2.4.4 Restauração abrupta da pressão osmótica extracelular

Durante a isquemia miocárdica, a fragmentação molecular e o acúmulo de metabólitos no espaço extracelular levam a um aumento da pressão osmótica intra e extracelular. Com a reperfusão, são produzidos o lavado do espaço extracelular e a normalização da sua pressão osmótica, estabelecendo um gradiente osmótico, tanto mais importante quanto mais severa e prolongada for a

isquemia, entre o interior e o exterior das células (Klein et al. 1985).

A favor desse gradiente, é produzida a entrada de água nas células, que aumentam de volume. Essa sobrecarga osmótica pode provocar a morte de miócitos viáveis durante a reoxigenação (Ruiz-Meana et al. 1995).

2.5 A CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA E O SISTEMA DE PERFUSÃO

A circulação extracorpórea (CEC) é um poderoso instrumento que possibilita a cirurgia de coração aberto, assistência circulatória ou respiratória temporária e, desse modo, um suporte hemodinâmico que mantém o equilíbrio orgânico durante a cirurgia cardíaca. O sistema de perfusão gera fluxo de sangue e, dependendo da aplicação, oxigena, resfria, reaquece ou processa esse sangue. Todavia, por ser um procedimento invasivo, tem aplicação apenas temporária. A incompatibilidade do circuito de perfusão com os elementos do sangue é a maior causa de complicações e morbidade nesse procedimento.

O desenvolvimento da “máquina de circulação extarcorpórea” é atribuído a John e Mary Gibbon, com seus célebres trabalhos na década de 1930 no *Massachusetts General Hospital* e, a seguir, na *Jefferson Medical School*, na Filadélfia. John Gibbon foi o primeiro cirurgião a empregar com êxito o método em seres humanos, corrigindo com sucesso, em maio de 1953, um defeito do septo atrial usando a CEC, desenhada pela *International Business Machines Corporation*.

No Brasil, o primeiro cirurgião a empregar a CEC foi Hugo Filipozi, apresentando sua série de pacientes operados em 1957. Zerbini, em São Paulo, e Domingos Junqueira, no Rio de Janeiro, na Casa de Saúde São Miguel, começaram a realizar os primeiros casos de cirurgia cardíaca com CEC a partir de 1958.

Desde então, os avanços técnicos e a aplicação de novas tecnologias têm diminuído a morbidade e a mortalidade da CRVM-CEC, reduzindo a reação entre os elementos do sangue e os biomateriais do circuito. O uso de heparina, entretanto, permanece como um pré-requisito, e também como uma de suas limitações.

Seus componentes básicos são uma ou mais cânulas venosas, um reservatório venoso, um permutador de calor, uma bomba, um filtro de linha arterial e uma cânula arterial. A máquina contém material biocompatível que, por definição, deve ser não-tóxico, não-imunogênico, não alergênico e não mutagênico. Exemplos desses materiais incluem policarbonato, polivinilcloreto, teflon®, polietileno, aço inoxidável, titânio, borracha de silicone e poliuretano. As vias para o fluxo de sangue são desenhadas para minimizar turbulência, cavitação, estagnação, alteração na velocidade e no volume do perfusato necessário. O sistema também requer múltiplos acessos, para que outros subsistemas sejam conectados, para coleta de amostras de sangue e para adicionar o perfusato e drogas. Dentre esses subsistemas ou aplicativos acessórios à máquina básica, há um sistema de sucção para cardiectomia, que aspira sangue das cavidades cardíacas abertas e do campo cirúrgico. Esse sangue é filtrado, depurado e adicionado diretamente ao perfusato. O sangue diluído proveniente do campo cirúrgico pode ser “reaproveitado” por um sistema de *cell saver*, que filtra e concentra hemácias antes de retorná-las ao perfusato.

O sistema de oferta de cardioplegia consiste em uma bomba, um reservatório e um permutador de calor, sendo desenhado para oferecer sangue enriquecido com potássio ou solução cristalóide diretamente na circulação coronária.

As máquinas de perfusão mais modernas permitem ao perfusionista monitorar visualmente o conjunto e corrigir eventuais problemas. Isso, no entanto, expõe os componentes do sangue a uma maior área de materiais sintéticos, a múltiplos sítios de entrada de ar e a uma potencial contaminação microbiológica.

A proteção miocárdica durante uma cirurgia cardíaca com CEC exige um conjunto de estratégias que tem como objetivo diminuir o consumo miocárdico de oxigênio, adequando-o à oferta tecidual momentânea, e/ou tornar as células cardíacas mais resistentes a episódios isquêmicos. Essas ações visam a atenuar e limitar a magnitude da lesão induzida por episódios de isquemia e reperfusão e suas consequências deletérias imediatas e tardias (Malbouisson et al. 2005).

Laffey et al. (2002) notam que na CEC a composição da solução que preenche o circuito, a cardioplegia, a presença de fluxo não pulsátil, o tipo de oxigenador, o tipo de circuito empregado e a temperatura durante a cirurgia são todos fatores que influenciam a resposta inflamatória sistêmica.

(a) Cardioplegia

A cardioplegia, realizada por infusão de solução hipotérmica (4°C a 12°C) ou normotérmica, sanguínea ou cristalóide, é a técnica de proteção miocárdica mais utilizada durante a CRVM, sendo empregada em 84,3% das cirurgias com CEC.

A partir da década de 1980, diversos estudos começaram a evidenciar que soluções de cardioplegia sanguínea com potássio promoviam uma proteção miocárdica mais eficiente do que as soluções cristalóides, fato observado pela redução da liberação de Cpk-Mb e da incidência de infarto perioperatório. Desde então, a cardioplegia sanguínea tem sido utilizada com maior frequência e com papel definido na proteção do miocárdio (Malbouisson et al. 2005).

Pichon et al. (1997) estudaram os resultados da cardioplegia sanguínea hipotérmica com reperfusão morna em 70 pacientes, randomicamente distribuídos em dois grupos homogêneos ("de cardioplegia cristalóide" e "de cardioplegia sanguínea"), utilizando troponina I como marcador bioquímico para avaliar a adequação da proteção ao miocárdio. As concentrações de troponina I foram analisadas imediatamente antes da reperfusão e após o desclameamento aórtico com coletas realizadas com 6, 9, 12 e 24 horas após a cirurgia, e diariamente por cinco dias. Os resultados mostraram que o total de troponina I liberada foi maior no grupo de cardioplegia cristalóide do que no grupo de cardioplegia sanguínea. Wan et al. (1999a) verificaram maior redução da resposta inflamatória em pacientes submetidos à cardioplegia sanguínea morna do que naqueles submetidos à cardioplegia cristalóide fria.

A técnica de administração da solução de cardioplegia mais utilizada é a infusão anterógrada intermitente na aorta, proximal ao coração, após o pinçamento aórtico, ou diretamente nos óstios das artérias coronárias. Recentemente, tem

sido proposta a infusão de cardioplegia de maneira retrógrada, através do óstio do seio coronariano. Essa técnica tem como pressupostos a possibilidade de manutenção da infusão sem interrupções e a distribuição de cardioplegia para regiões irrigadas por vasos coronarianos estenóticos, melhorando a proteção das regiões subendocárdicas (Malbouisson et al. 2005; Murad 1982).

A temperatura da solução cardioplégica ainda é motivo de controvérsia. Soluções com temperaturas inferiores a 12°C parecem ser mais efetivas na redução do consumo miocárdico de oxigênio, produção de lactato e indicadores de hipóxia celular, em comparação a soluções de temperatura ambiente. Entretanto, soluções com temperatura em torno de 27°C parecem estar relacionadas à melhor recuperação da função ventricular esquerda no pós-operatório imediato, à menor incidência de arritmias, à necessidade de desfibrilação e ao menor volume de sangramento. Outro ponto controverso é o intervalo entre as infusões de cardioplegia, sendo 20 a 25 minutos o intervalo mais comumente utilizado pelos cirurgiões. Também não existe consenso sobre a dose ideal de cardioplegia, assim como sobre a adição de substratos como l-arginina, antiarrítmicos ou betabloqueadores (Paparella et al. 2002; Malbouisson et al. 2005).

(b) Hipotermia corporal

A hipotermia terapêutica tem sido outra estratégia utilizada para diminuir a lesão miocárdica secundária à isquemia durante a CRVM-CEC. O mecanismo pelo qual a hipotermia exerce seu papel protetor no miocárdio não está completamente esclarecido. A explicação se baseia na redução no consumo de oxigênio induzido pela diminuição da atividade metabólica celular e pelas reações enzimáticas, o que poderia limitar as zonas de isquemia nas regiões de miocárdio sob risco. Em humanos resfriados a 32°C, o consumo de oxigênio corporal total diminui em 45%, e não está relacionado a alterações na saturação arterial de oxigênio.

À medida que a temperatura diminui, o consumo miocárdico de oxigênio diminui, ficando abaixo de 4°C a 12°C. Esse efeito cardioprotetor é independente da bradicardia induzida pela hipotermia, pois persiste após normalização da frequência cardíaca com uso de marca-passo (Labow et al. 1993). A diminuição

da atividade metabólica, contudo, não parece ser o único mecanismo relacionado à cardioproteção induzida pela hipotermia. Reduções da peroxidação lipídica e da produção de radicais livres foram descritas em modelos de hipotermia. A hipotermia pós-isquêmica e pós-traumática reduz os níveis extracelulares de ácido 2,3-dihidrobencóico, um indicador da produção de radicais livres. Em modelos animais e em corações isolados, foi demonstrado que a hipotermia preserva as reservas celulares de ATP durante episódios de isquemia (Maubouisson et al. 2005).

A liberação de mediadores inflamatórios é sensível à temperatura e quando se comparam os efeitos da cirurgia em hipotermia e normotermia, os resultados são, em geral, conflitantes (Hammon 2008; Paparella et al. 2002). A principal discussão em torno dos resultados reside na definição dos valores da normotermia. Para alguns investigadores, esses variam entre 32 °C e 34°C, enquanto para outros, entre 36 °C e 37°C. Menasché et al. (1994) encontraram níveis maiores de moléculas de adesão e de enzimas proteolíticas dos leucócitos em temperaturas de 34°C, comparativamente aos níveis encontrados em hipotermia (26-28°C). Outros autores não encontraram diferenças em pacientes randomizados em temperaturas maiores que 36°C e menores que 28°C. A cirurgia em normotermia aumenta a liberação de citocinas e outros mediadores celulares solúveis da inflamação, quando comparada à cirurgia em hipotermia (Laffey et al. 2002).

A intensidade e a duração da hipotermia são determinadas de acordo com o procedimento cirúrgico a ser realizado. Apesar dos efeitos benéficos da hipotermia sobre a proteção orgânica, o aumento do tempo de duração da hipotermia parece exercer efeitos paradoxais, piorando a lesão miocárdica induzida pela isquemia-reperfusão. A hipotermia profunda por períodos prolongados pode exacerbar a sobrecarga de cálcio intracelular e induzir a formação de peróxidos e espécies reativas de oxigênio (Chien et al. 1994).

(c) *Cell saver*

Esse mecanismo protetor garante que apenas sangue plenamente anticoagulado passe pelo circuito da CEC. Coágulos no circuito acarretam problemas,

resultando na interrupção imediata da perfusão e possível dano ao paciente. Após a entrada do sangue por uma ponteira aspirativa, a heparina é adicionada e, em seguida, o sangue é direcionado para um filtro de 20 μ m e depois para um reservatório onde as células são “lavadas” e centrifugadas. O lavado, que inclui constituintes do plasma e heparina, é desprezado, mas o concentrado de hemácias é coletado em bolsas plásticas e reinfundido, se necessário.

(d) Perfusato

Em geral, o perfusato consiste de solução salina balanceada, que preenche o sistema, sendo necessários cerca de dois litros. Uma vez iniciada a perfusão, o hematócrito do paciente é mantido em torno de 20% e 25%, sendo que alguns cirurgiões permitem valores menores, quando a temperatura é mantida mais baixa. Durante a perfusão, perfusato adicional pode ser necessário para operar o sistema com segurança. O tipo de perfusato que pode ser acrescido é determinado pela concentração de hemoglobina.

(e) Anticoagulação

A anticoagulação durante a CEC é realizada pela heparina, que age próximo do final da cascata da coagulação. Doses padronizadas de heparina (300-400 U/kg) são utilizadas rotineiramente, sendo a anticoagulação mensurada através do tempo de coagulação ativado (TCA). O TCA no início da CEC deve ser superior a 400 segundos, sendo monitorado a cada 30 minutos até o término da cirurgia, a fim de evitar a formação de trombos no circuito. A heparina aumenta a sensibilidade das plaquetas a vários agonistas e também contribui para a ativação dos neutrófilos. Quando ligada à protamina, é o principal fator ativador do complemento.

(f) Protamina

Ao final da CEC e da retirada das cânulas venosas, a protamina é administrada na dose de 1mg para cada 100 unidades de heparina fornecida, de modo a obter-se a neutralização da anticoagulação.

2.6 RESPOSTA INFLAMATÓRIA EM CIRURGIA CARDÍACA COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

A era de modernização da cirurgia cardíaca foi impulsionada pelo desenvolvimento da técnica de CEC, no início dos anos de 1950. A partir de então, tornou-se claro que a CEC era indispensável para a maioria das cirurgias cardíacas, embora uma indesejável resposta inflamatória sistêmica esteja associada a esta técnica (Edmunds 1998).

Vários fatores se associam à CEC na resposta inflamatória e podem ser dependentes do material utilizado (exposição do sangue a superfícies não fisiológicas), ou independentes do material (trauma cirúrgico, isquemia e reperfusão, mudanças na temperatura corporal e liberação das endotoxinas). Esses fatores têm sido bem documentados como indutores da complexa resposta inflamatória, incluindo ativação do complemento; liberação de citocinas; ativação de leucócito junto com ações das moléculas de adesão e produção de várias substâncias, incluindo radicais hiperóxidos, metabólitos do ácido aracdônico, fator ativador de plaquetas (PAF), óxido nítrico (NO) e endotelinas. Essa cascata inflamatória pode contribuir para o desenvolvimento de complicações pós-operatórias, tais como falência respiratória, disfunção renal, desordens hematológicas, disfunção neurológica, alterações hepáticas e falência múltipla dos órgãos.

Mais recentemente, tem sido evidenciado que a resposta antiinflamatória pode ser desencadeada no início e também ao término da CEC, sendo esta resposta um mecanismo de compensação no complexo fisiológico.

A cirurgia cardíaca provoca uma vigorosa resposta inflamatória, com importantes implicações clínicas. Kollef et al. (1995) indicam uma incidência de falência múltipla dos órgãos em 11% dos pacientes, com taxa de 41% de mortalidade, sendo o principal preditor a necessidade de ventilação mecânica prolongada. Dados da Sociedade Americana de Cirurgia Torácica apontavam em 1999 que 20% dos pacientes considerados de baixo risco desenvolviam complicações pós-operatórias em consequência da cirurgia cardíaca com CEC (Grover 1999).

A contribuição dos fatores que influenciam a resposta inflamatória, a incidência e a severidade dos resultados clínicos e, em particular, as razões de certos pacientes desenvolverem manifestações distintas e tratáveis, e outras complicações graves ainda carecem de mais investigações.

Laffey et al. (2002) apontam três perspectivas distintas que podem contribuir para uma melhor compreensão entre resposta inflamatória e seus efeitos clínicos: (a) a complicada interação molecular da resposta humoral pró e antiinflamatória pode contribuir na apresentação clínica e na evolução da resposta inflamatória sistêmica, em que o equilíbrio entre as citocinas e sua liberação determinam o curso que segue a CRVM-CEC; (b) o múltiplo insulto gerado na CRVM-CEC pode levar a sequelas pós-cirúrgicas, tais como infecção e hipoperfusão orgânica. A perda do controle da resposta inflamatória pode evoluir para um incontrolável processo destrutivo que resulta da disfunção orgânica. Como exemplo de mecanismo potencial inserido na base fisiopatológica dos múltiplos insultos, inclui-se a habilidade da CRVM-CEC em ativar os neutrófilos, causando sequestro pulmonar e elevando a liberação de citotoxina com subsequente insulto; (c) tem sido sugerido que o estado pró-inflamatório é apenas uma parte de uma resposta multifacetada, sendo também necessário considerar o inverso, chamado mecanismo antiinflamatório de compensação. As respostas antiinflamatória e pró-inflamatória, de modo cumulativo, representam o esforço do organismo em restabelecer a homeostase e podem manifestar-se clinicamente com predomínio de uma, de outra ou com uma resposta intermediária (McBride & McBride 1999; Picone et al. 1999).

A inflamação é a resposta inespecífica inicial do tecido vascularizado frente à variedade de injúrias sofridas pelo corpo para proteger-se do agente que o agride. Independentemente da causa, a resposta inflamatória segue qualitativamente a mesma via de ativação, envolvendo tanto a imunidade humoral quanto a celular. Como um mecanismo de proteção, a resposta inflamatória pode, às vezes, ser exagerada, sendo mais lesiva do que protetora. Sob este aspecto, ela não difere na CRVM-CEC, podendo provocar complicações que prolongam o tempo de hospitalização e até levar ao óbito (Warren et al. 2009a).

De acordo com Warren et al. (2009a), a resposta inflamatória na CRVM-CEC pode

ser dividida em duas fases principais. A primeira (fase precoce) ocorre como resultado do sangue, que entra em contato com as superfícies não endotelizadas e a segunda (fase tardia) é dirigida pela injúria de isquemia e reperfusão e pela endotoxemia (Figura 2.6).

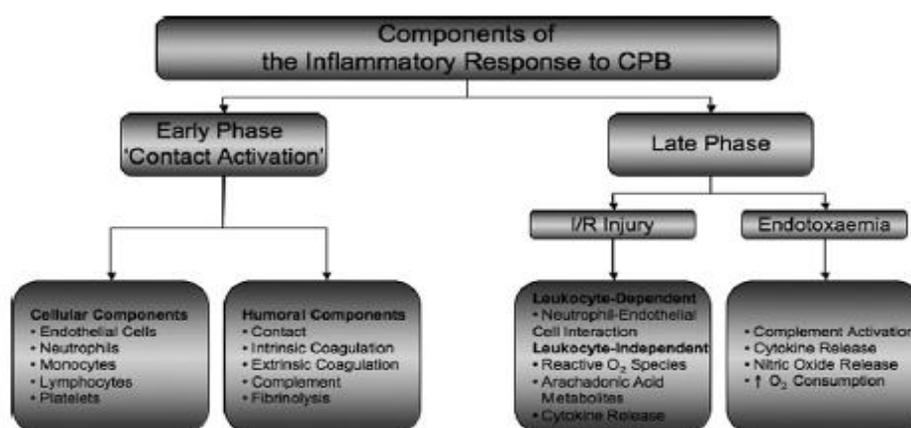


Figura 2.6 Mecanismos associados à resposta inflamatória na circulação extracorpórea. Fonte: Warren et al. (2009a)

2.6.1 Primeira fase da resposta inflamatória e mecanismos associados

A resposta inflamatória ocorre no início da CEC através do contato dos componentes celulares e humorais do sangue com o material sintético do circuito da CEC. Em condições normais, o sangue faz contato apenas com a superfície lisa do endotélio celular do vaso e essa superfície desempenha um importante papel no equilíbrio da circulação. Através da produção balanceada de substâncias pró e anticoagulantes, as células endoteliais asseguram que o sangue se mantenha na forma fluida, até que em algum momento a injúria do vaso ocorra e a formação do coágulo se torne benéfica. A superfície não endotelizada do circuito da CEC muda esse equilíbrio na direção da trombose e, para prevenir a ocorrência de trombo, doses adequadas de heparina são administradas antes do início da extracorpórea. Quando o sangue heparinizado entra em contato com o circuito da extracorpórea, proteínas do plasma são instantaneamente adsorvidas por dentro do circuito, formando uma camada única. Algumas dessas proteínas sofrem mudanças em sua forma, expondo receptores às células e proteínas circulantes no sangue. Isso conduz à ativação

de cinco sistemas de proteínas plasmáticas da resposta humoral (contato, coagulações intrínseca e extrínseca, complemento e fibrinólise) e cinco grupos de células da resposta celular (células endoteliais, linfócitos, monocitos, neutrófilos e plaquetas).

Os sistemas de cinco proteínas e de cinco grupos celulares estão interligados, sendo o seu papel complexo e sua manifestação silenciosa, e ainda não completamente compreendidos. Entretanto, as substâncias vasoativas, as enzimas e a produção de microêmbolo pelos mediadores ativados iniciam a resposta inflamatória corporal total e são responsáveis pelas complicações mais importantes associadas à CEC – coagulopatia, edema tissular e disfunção orgânica temporária (Edmunds 1998).

2.6.1.1 Resposta humoral

(a) Sistema de contato

O sistema de contato consiste em quatro proteínas primárias do plasma: fatores XII (fator Hageman) e XI; pré-caliceína; cinimogênio de alto peso molecular (HK). Quando o sangue entra em contato com cargas negativas das superfícies não endotelizadas, o fator XII, na presença de pré-caliceína e cinimogênio de alto peso molecular, é ativado e clivado em duas serinoproteases, fator XIIa e fator XIIf (termo para grupo de fragmentos remanescentes).

O fator XIIa ativa o fator XI em XIa e desse modo inicia-se a via intrínseca da coagulação (Figura 2.7). Também ativa o cinimogênio de alto peso molecular para formar bradicinina, potente peptídeo vasoativo que causa vasodilatação e contração do músculo liso não vascular. Finalmente, cliva a pré-caliceína, produzindo caliceína, principal mediador, que diretamente ativa os neutrófilos, desencadeia a fibrinólise e acelera mais a clivagem do fator XII em uma alça de feedback positivo, amplificando a resposta inflamatória (Colman 1984; Saatvedt 1995; Sainz 2007). Está claro que, durante o CRVM-CEC, o sistema de contato ativa diretamente a via intrínseca da coagulação e os neutrófilos e sequencialmente ativa indiretamente plaquetas, sistema fibrinolítico,

complemento e células endoteliais (Edmunds et al. 1995).

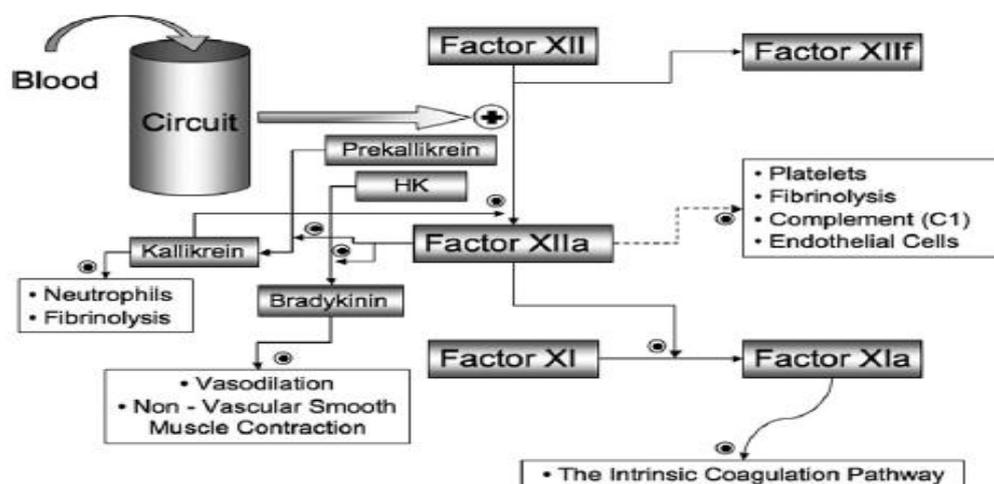


Figura 2.7 - Ativação do sistema de contato pela circulação extracorpórea. Fonte: Warren et al. (2009a)

(b) Sistemas de coagulação intrínseco e extrínseco

A ativação da via intrínseca da coagulação inicia-se a partir do sistema de contato, quando o sangue é exposto a uma superfície artificial ou ao colágeno pelo dano da parede vascular. Na presença do cinimogênio de alto peso molecular, o fator XIIa ativa o fator XI em XIa. Este é o primeiro degrau da via intrínseca da coagulação, que continua através do fator IX, na presença de fosfolípidos, cálcio e o fator VIII para ativar o fator X. O fator Xa (ativado) é o ponto chave, quando as vias intrínseca e extrínseca se encontram. O fator Xa, na presença do fator V, do cálcio e de fosfolípidos, atua como uma protease convertendo a molécula precursora inativa protrombina em trombina.

A trombina tem ações homeostáticas que incluem ativação dos fatores V, VIII e XI. A ativação do fator VII por uma lesão estrutural e a consequente estimulação para a contração pelas células do músculo liso subendotelial causa perda sanguínea pelo vaso injuriado (Edmunds & Colman 2006).

Entretanto, as principais ações da trombina durante a CEC é clivar o fibrinogênio em fibrina, ativar o fator XIII para fixar e depositar fibrina, ativar plaquetas através

de receptores específicos da trombina e estimular as células endoteliais a produzir o fator de von Willebrand, facilitando a agregação plaquetária (Valen 1994; Holdright et al. 1995). Essas reações criam a superfície que suporta a adesão dos fatores de coagulação e com isso facilita uma completa liberação de trombina, necessária para a hemostasia.

A via intrínseca é a rota predominante para coagulação durante a CEC. Além de constituir a via final do sistema de coagulação, a trombina possui uma gama de ações, sendo um dos principais mediadores inflamatórios de crescimento no sítio da agressão, induzindo a produção de substâncias vasoativas quimioatratadoras, as quais promovem adesão dos neutrófilos, atração dos macrófagos e aumento da permeabilidade vascular.

A via extrínseca inicia-se através de trauma na parede do vaso, sendo a que predomina na hemostasia das injúrias endoteliais. A injúria vascular expõe as células não endotelizadas do tecido aos componentes do sangue. As vias intrínseca e extrínseca se sobrepõem, sendo que a primeira tem um papel menor nesse cenário.

O fator tissular (TF, *tissue factor*) é uma membrana integral de glicoproteína que cobre as células do endotélio vascular e se liga ao fator VII da circulação, formando um complexo – o fator VII e o fator VIIa. Na presença de cálcio e fosfolípídeos, o complexo cataliza a conversão do fator X em sua forma ativa (fator Xa). Entretanto, essa interação pode não se dar dessa forma em pacientes submetidos à CRVM-CEC. Nessa condição, a expressão do TF parece não estar restrita apenas ao subendotélio. Alguns investigadores têm reportado a presença de um TF que surge no sangue em condições pró-inflamatórias, como na cirurgia cardíaca (Khan et al. 2006).

A razão disso ainda não está clara. Ensaios sugerem que o TF que surge no meio intravascular está relacionado às células sanguíneas como uma mistura indefinida de partículas (0,1-1 μ m), ou como fragmentos pró-coagulantes do TF (Nieuwland et al. 1997; Engelman 2006). A liberação de citocinas pró-inflamatórias durante a CRVM-CEC pode estimular neutrófilos e monócitos a

produzir TF na sua superfície e o TF do sangue em combinação com monócitos ativados pode ativar o fator VII em pacientes submetidos à cirurgia cardíaca, mais do que quando combinado com plaquetas ativadas (Hunt et al. 1998; Nijziel et al. 2001; Hattori et al. 2005; Maugueri et al. 2006).

Independentemente da origem do TF, logo que o fator Xa é produzido, a trombina é também produzida e as duas vias da coagulação seguem um curso comum. A cirurgia utilizando CEC ativa extensivamente as duas vias da cascata da coagulação, necessitando de heparinização sistêmica para prevenir a formação de coágulos no circuito da extracorpórea. A heparina potencializa a atividade da antitrombina III por causar mudança na configuração que a ativa no local, e dessa maneira, inibe indiretamente a formação de trombina (Pixley et al. 1985; Hunt et al. 1998).

A heparinização sistêmica não está isenta de risco. A ativação plaquetária induzida pela heparina pode levar a trombocitopenia e a uma possível hiperpotassemia, induzida secundariamente pela inibição da aldosterona. A heparinização pode inibir a formação de coágulo, que ocorre no estágio final das vias intrínseca e extrínseca. Como resultado, a cascata da coagulação é completamente ativada e a consequente produção de trombina ocorre durante a anti-coagulação pela heparinização sistêmica, manifestada por elevados níveis do complexo antitrombina-trombina em CRVM-CEC. Essa produção progressiva de trombina ocorre predominantemente pelo dano pericárdico, levando a uma coagulopatia de consumo que é responsável por muitas complicações manifestadas por sangramento tromboembólico não cirúrgico associado à CRVM-CEC (Philippou et al. 1999; Philippou et al. 2000).

(c) Ativação do complemento

O sistema do complemento consiste em resposta inata, citotóxica, composta por um grupo do sistema imunológico de trinta e cinco proteínas que interagem com o plasma e as proteínas da membrana celular. Esse sistema inicia e amplifica a resposta inflamatória e atua como complemento para a imunidade, mediada por anticorpo contra a infecção bacteriana. Esse sistema abrange vários fatores

solúveis que previnem a ativação espontânea do complemento e várias proteínas reguladoras que protegem o hospedeiro de um inesperado ataque mediado pelos complementos (Walport 2001).

A ativação do complemento pode ocorrer por três vias principais: a clássica, através de imunocomplexo (antígeno-anticorpo); a alternativa, que pode ser ativada por células microbianas ou por superfícies estranhas; a via da manose ligada à lecitina (MBL). Esta última é ativada pela ligação da lecitina do plasma a resíduos encontrados em microorganismos (Day Jr & Taylor 2005). Enquanto a via clássica requer anticorpos para ser ativada, as outras duas vias (alternativa e MBL) não são anticorpos dependentes e por isso são ditas inespecíficas. As três vias eventualmente produzem uma protease denominada C3 convertase e a partir dessa produção o sistema de complemento segue caminhos semelhantes, independentemente da via ativada (alternativa, clássica ou MBL). O papel da C3-convertase é clivar e ativar C3, gerando C3a e C3b e desencadeando a cascata de clivagem e eventos de ativação.

A via alternativa é a principal via através da qual a cascata do complemento é ativada durante a CRVM-CEC. A ativação se dá imediatamente pelo contato do sangue com as superfícies sintéticas do circuito da CEC e ocorre através da hidrólise espontânea do C3 para formar C3a e C3b. O C3b deixa uma proteína do plasma – fator B – aderir-se a ele, quando é então clivado em fator Ba e Bb. As sobras do fator Bb ligam-se ao C3b e formam o C3bBb, ao passo que o Ba é liberado no espaço adjacente. O C3bBb é a enzima de conversão do C3 na via alternativa que, produzido em pequenas quantidades, cliva múltiplas proteínas C3 em C3a e C3b. Ligando-se com outro fragmento C3b da C3 convertase da via alternativa, o C3bBb forma o C3bBbC3b, uma convertase de C5 produzida por outras vias. Essa convertase ativa C5 em C5a e C5b. O C5a ativa diretamente os neutrófilos e o C5b dá início à formação do complexo de ataque de membranas (MAC, *membrane attack complex*) quando composto com C6, C7, C8 e C9 polimérico (Wan et al. 1997; Pintar & Collard 2003). O MAC é um produto final da cascata do complemento capaz de provocar lise osmótica da célula e morte através dos poros que atravessam as membranas (Figura 2.8).

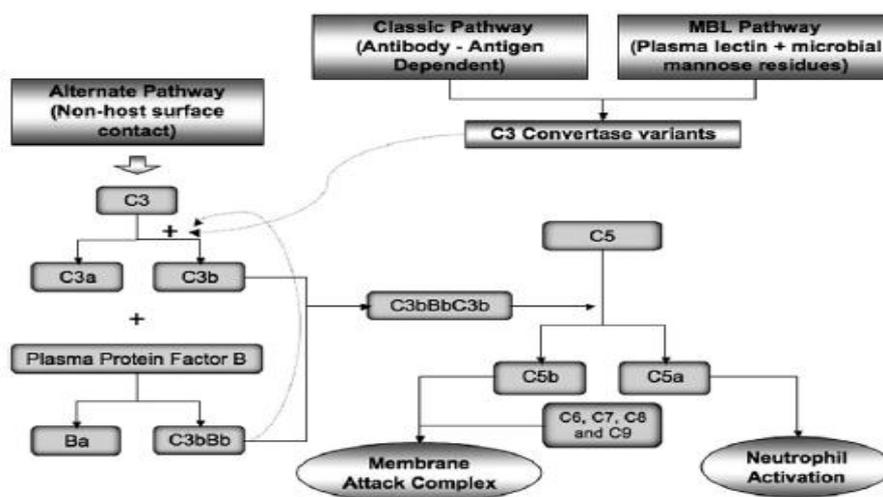


Figura 2.8 - Ativação da via alternativa pela circulação extracorpórea. Fonte: Warren et al. (2009a)

A CRVM-CEC também ativa a via clássica do complemento, a partir de três prováveis mecanismos: a inativação da heparina pela protamina ao final da CEC, a liberação de endotoxina durante a injúria de reperfusão pela flora intestinal e a ativação do C1 pelo fator XIIa, produzido pelo sistema de contato (Wan et al. 1997; Carr & Silverman 1999).

A ativação do complemento durante a CRVM-CEC apresenta um importante papel na injúria tecidual peri-operatória. As anafilatoxinas C3a, C4a e a C5a, a mais potente, aumentam rapidamente a permeabilidade capilar e as alterações do tônus vasomotor, resultando em contração da musculatura lisa e hipotensão (Downing & Edmunds 1992). A anafilatoxina C5a rapidamente se liga aos neutrófilos e em combinação com o MAC estimula a ativação dos neutrófilos e das plaquetas. Entretanto, o MAC causa lise celular e danos a plaquetas, células endoteliais e cardiomiócitos. A inibição do MAC previne a regulação crescente (*up-regulation*) de neutrófilos CD11b, que é a expressão dos receptores de plaquetas GMP-140, e a formação de conjugados de neutrófilos-plaquetas e miócitos-plaquetas. A ativação do complemento durante a CRVM-CEC está associada à produção de radicais livres de oxigênio e à sua significativa morbidade (Kirklin et al. 1983; Hamilton et al. 1990; Edmunds et al. 1995).

(d) Fibrinólise

O quinto sistema de proteína do plasma ativado durante a CEC é o sistema fibrinolítico, que atua se contrapondo ao sistema de coagulação. Se a coagulação for ativada sem mecanismo regulador, seu resultado pode provocar uma produção contínua de fibrina, levando à trombose. O sistema fibrinolítico limita esse processo, localizando formação de êmbolos no interior do tecido ou lesão do vaso, o que previne a extensa oclusão do vaso e a isquemia tissular secundária.

O plasminogênio é uma proteína inativa sintetizada no fígado e nas células endoteliais. Entretanto, é incapaz de clivar fibrina e possui afinidade para isso, sendo incorporada para o interior dos coágulos quando estes se formam. O plasminogênio é convertido para sua forma ativa, a plasmina, predominantemente pelo fator ativador do plasminogênio tissular (t-PA).

A plasmina é uma serino-protease que reduz a fibrina em subprodutos de degradação (o menor deles é o D-dímero), levando à dissolução do coágulo. Em circunstâncias normais, o t-PA é liberado lentamente pelo endotélio dos vasos sanguíneos danificados até que a dissolução do coágulo ocorra em alguns dias, sem ruptura ou reparo do vaso. A ativação e inibição da plasmina são favorecidas para serem reguladas por uma variedade de proteínas, que inclui a α_2 -antiplasmina, α_2 -macroglobulina e o inibidor da fibrinólise ativável pela trombina (Walker & Neshein 1999).

A fibrinólise ocorre continuamente durante a cirurgia cardíaca, particularmente através da agressão ao pericárdio. Isso é desencadeado, em geral, pela CRVM-CEC, na qual a fibrinólise ocorre através do circuito, e mostra seus resultados pelo aumento progressivo dos níveis de t-PA e D-dímero durante toda a CEC. Essa ativação é causada pela estimulação da trombina e das células endoteliais que produzem o t-PA, bem como pela elevação dos níveis do fator XIIIa e da caliceína (Stibbe et al. 1984; Levin & Santell 1988; Hunt et al. 1998; Tabuchi et al. 1993; Khallif et al. 2004; Day & Taylor 2005).

A extensão da fibrinólise pode ser indicada pelos níveis de D-dímero e tem sido

positivamente correlacionada com aumento dos eventos hemorrágicos no pós-operatório (Gram et al. 1990). Finalmente, a ativação desse sistema pode estar relacionada a outros aspectos da hemostasia, como a redução da adesão plaquetária e a capacidade de agregação devido à redistribuição dos receptores de glicoproteína Ib e IIb/IIIa.

2.6.1.2 Resposta celular

(a) Células endoteliais

Embora as células endoteliais não se desloquem para um contato direto com o circuito da CEC, elas estão em contato constante com o sangue e respondem a uma variedade de agonistas produzidos neste meio, principalmente com a trombina, o C5a, a interleucina-1B e o TNF- α . Através da produção ou inativação de outras substâncias, elas desempenham um conjunto de papéis na resposta inflamatória na CRVM-CEC: mantêm a fluidez do sangue e a integridade do sistema vascular, influenciam no tônus vascular e estão envolvidas na adesão e transmigração dos leucócitos para os tecidos (Boyle et al. 1997).

A interleucina-1B e o TNF- α estimulam as células endoteliais a produzir e ativar as moléculas de adesão E-selectina e P-selectina. Essas moléculas, de elevada capacidade de ligação e afinidade entre elementos do sangue, unem-se e tornam-se ligantes (*ligands*). Os leucócitos ativados mediam, então, o mecanismo denominado *rolling*, no qual os neutrófilos ocupam um papel de destaque (De Paparella et al. 2002; Day & Taylor 2005; Kaminski et al. 2002). Os neutrófilos participam inicialmente induzindo sua ativação sobre as moléculas de adesão (ICAM-1) e as moléculas-1 de adesão vascular (VCAM-1), que se ligam firmemente com os neutrófilos e monócitos ao endotélio, evoluindo para atravessar por diapedese para o espaço extravascular mediando várias manifestações inflamatórias na CRVM-CEC.

Durante a CRVM-CEC, as células endoteliais produzem uma variedade de agentes anticoagulantes e hemostáticos. Entre os anticoagulantes, estão incluídos: sulfato de heparina; antitrombina; trombomodulina e a nexin-1-protease

(ambos removedores da trombina); proteína-S (que acelera o anticoagulante natural proteína-C); t-PA. As células endoteliais liberam ainda um outro anticoagulante, um polipeptídeo de cadeia única – o inibidor da via do fator tissular – que inibe reversamente o fator hemostático Xa e indiretamente o complexo do fator hemostático VIIa–TF, impulsionando a via extrínseca da coagulação. Esses agentes também influenciam o tônus vasomotor pela produção ou inativação de uma variedade de substâncias químicas que incluem o óxido nítrico (fator relaxante derivado do endotélio), a endotelina-1, a histamina, a noradrenalina e a bradicinina (Cardigan et al. 1997; Ranucci 2006).

(b) Ativação dos leucócitos

Durante a CRVM-CEC, os leucócitos são, em parte, sequestrados da circulação. Muitos deles se aderem aos tubos do circuito, outros são destruídos, ocorrendo também hemodiluição pelo fluido utilizado para preencher o circuito da CEC. Entretanto, durante e após a CRVM-CEC, ocorre um aumento dos leucócitos em número e atividade (Edmunds 1998). Três tipos principais de leucócitos polimorfonucleares são ativados pela CRVM-CEC: neutrófilos, monócitos, e linfócitos.

(b.1) Neutrófilos

Os neutrófilos são a chave das células efetoras na reação de defesa e, quando ativados, liberam um série de enzimas citotóxicas de grânulos intracelulares, incluindo neutrófilo elastase, mieloperoxidase e algumas lisoenzimas. Através de um mecanismo fisiológico denominado explosão oxidativa ou respiratória (*respiratory burst*), eles são capazes de produzir radicais livres do oxigênio, peróxido de hidrogênio, grupos ácidos, e outras substâncias altamente citotóxicas. A liberação de várias substâncias nocivas pode ocorrer através da vasculatura ou diretamente pelos tecidos. O alcance das substâncias dos grânulos intracelulares dos neutrófilos ativados e seus efeitos são apresentados na Tabela 2.1 (Warren et al. 2009a).

Product	Source	Physiological effect
Oxidants		
Superoxide anion	Neutrophil (PMN) membrane NADPH oxidase	Endothelial dysfunction, adhesion molecule expression, tissue edema, vasoconstriction, neutralization of NO, Ca ²⁺ dyshomeostasis, contractile dysfunction
Hydrogen peroxide	Dismutation of ⁻ O ₂ , conversion to HOCl	Lipid peroxidation trigger; P-selectin expression
Hypochlorous acid	PMN-azurophilic granule, myeloperoxidase; reaction with H ₂ O ₂ → singlet oxygen	Chlorination, oxidation; formation of chloramines; predominant cytotoxant
Hydroxyl radical	PMN; Haber-Weiss reaction	Biological membrane damage
Proteinases		
Elastase		Hydrolysis of extracellular matrix proteins (elastin, fibronectin), collagen types III and IV
Collagenase		
Eicosanoids, lipids		
Phospholipase A ₂	Thrombin-stimulated endothelium	chemotaxis, adhesion, degranulation, ⁻ O ₂ Generation; actions species-sensitive
Leukotriene B ₄		
Platelet activating factor		
Thromboxanes (A ₂ , B ₂)		
Adhesion molecules		
L-selectin		Shed after activation
sialyl Lewis ^x		Counterligand to P-selectin
PSGL-1		Counterligand to P-selectin
β ₂ -Integrins (CD11a, CD11b, CD11c; CD18)		Constitutively expressed; activated by chemotactic stimulants; CD11b/CD18 binds ICAM-1 and C3bi; initiates firm adherence to endothelium (EC)

Tabela 2.1 - Produtos derivados dos neutrófilos na resposta inflamatória. Fonte: Jordan et al. (1999)

A partir de diferentes mecanismos, a CRVM-CEC ativa os neutrófilos, o que é evidenciado por elevados níveis de neutrófilo-elastase e de citocinas pró-inflamatórias produzidas por neutrófilos, e pela formação do conjugado de leucócitos e plaquetas (Butler et al. 1993).

Predominantemente, os neutrófilos são ativados através de componentes da cascata do complemento (C3a e C5a) e do sistema de contato (calicreína e fator XII_f). A ativação dos neutrófilos ocorre em alguns segundos de exposição aos complementos ativados C3 e C5. Entretanto, neste contexto, outros mediadores ativam os neutrófilos durante a CRVM-CEC, tais como, trombina, TNF-α, heparina, endotoxina, histamina e peptídeo-2, ativador de neutrófilo, que é liberado pelas plaquetas. Finalmente, os neutrófilos também podem ser ativados através da interação direta com as células endoteliais, como descrito anteriormente. Esta interação tem um importante papel na fase tardia da resposta inflamatória (Wan et al. 1997; Day & Taylor 2005).

Os mecanismos envolvendo a quimiotaxia e a ativação dos neutrófilos no local da agressão do tecido encontram-se bem descritos. As células endoteliais são

ativadas pela exposição a agentes fisiológicos, como as citocinas pró-inflamatórias, trauma, injúria de isquemia e reperfusão e bactéria (Figura 2.9). Subsequentemente a essa ativação, esses agentes começam a recrutar neutrófilos do sangue no meio intravascular. Inicialmente, os neutrófilos rolam (*roll*) ao longo da borda do endotélio, conforme o aumento da expressão de L-selectina na superfície do neutrófilo e da E-selectina e P-selectina nas células do endotélio. Essas selectinas são consideradas uma ligação de baixa afinidade, mas para que ocorram a completa adesão e a consequente transmigração dos neutrófilos, a ativação de mediadores de ligação de alta afinidade é necessária – as moléculas de adesão celular, as chamadas integrinas CD11b-18, ICAM-1, VCAM-1, e PECAM-1 – uma vez que esses mediadores atuam produzindo uma adesão firme dos neutrófilos à superfície endotelial (Pintar & Collard 2003).

A adesão dos neutrófilos na superfície endotelial pode ter como consequência a oclusão microvascular, levando à isquemia do órgão. Uma vez aderido, o neutrófilo modifica sua forma, facilitando sua transmigração para o interior do compartimento intersticial através da borda do endotélio. Isso é possível pela expressão da molécula de adesão nas células da junção do endotélio e pela liberação de agentes quimiotáxicos no espaço subendotelial, o que provoca uma queda no gradiente de concentração até que ocorra a migração. Uma vez entre a matriz extracelular, os neutrófilos liberam o conteúdo citotóxico dos seus grânulos, resultando em aumento da permeabilidade microvascular, com formação de edema intersticial, trombose e lesão do parênquima celular (Vermeiren et al. 2000; Collard & Gelman 2001). Isto tem sido evidenciado como ocorrendo nos pulmões, no coração e em outros tecidos e órgãos durante a CRVM-CEC. A maioria dos investigadores considera que os neutrófilos desempenham um papel central na injúria dos órgãos e tecidos como resultado da CEC (Kin et al. 2004; Warren et al. 2009a).

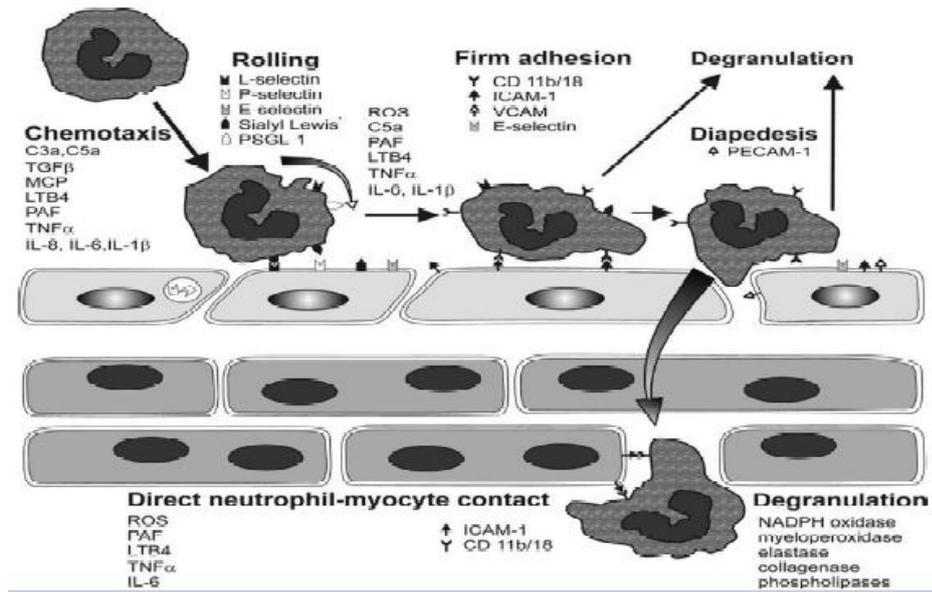


Figura 2.9 - Estágios da ativação dos neutrófilos. Fonte: Kaminski et al. (2002)

(b.2) Monócitos

Os monócitos são também ativados durante a CRVM-CEC, porém mais lentamente do que o de outros sistemas, como o do complemento e do neutrófilo, com um pico nos níveis de atividade que ocorre algumas horas após a cirurgia (Greilich et al. 2008). A ativação dos monócitos não está bem esclarecida. A produção do C3b na cascata do complemento pode ser um mecanismo, mas outros fatores, como o contato nas superfícies do circuito da CEC, o C5b-9, a interação com o fator tissular e a endotoxina, podem contribuir nesse processo (Edmunds 1998; Hattori et al. 2005).

Quando estimulados, os monócitos produzem uma quantidade de citocinas pró e antiinflamatórias, incluindo IL-1, L-2, IL-3, IL-6 e IL-8. O papel e a produção do TNF-α, outra citocina produzida pelo monócito durante CRVM-CEC, são controversos. Alguns estudos mostram que ocorre um aumento dos níveis de TNF-α, enquanto em outros esse aumento não é evidenciado (Kawamura et al. 1993; Pintar & Collard 2003). Os níveis plasmáticos destes importantes mediadores da resposta inflamatória possuem um pico que ocorre algumas horas após a CRVM-CEC, sugerindo que o impacto pode ser amplo no período pós-operatório.

Os monócitos possuem um importante papel na homeostasia durante a cirurgia cardíaca, tanto de modo independente, quanto em associação com as plaquetas, com as quais toma a forma conjugada – “monócito-plaqueta” – pela via do receptor 140 da membrana granular da proteína que, quando estimulado por citocinas pró-inflamatórias, produz mais monócitos, expondo o fator tissular em sua superfície (Nijziel et al. 2000; Maugeri et al. 2003). Esse mecanismo ocorre tanto na parede do pericárdio como no circuito da CEC.

O fator tissular presente no sangue, em combinação com monócitos ativados, podem ativar o fator VII em pacientes submetidos à cirurgia cardíaca, mais do que quando combinado com as plaquetas ativadas (Hattori et al. 2005; Khan et al. 2006). O monócito CD11b e a conjugação monócito-plaqueta são marcadores de ativação mútua e mostram-se elevados durante e após a CEC. O monócito CD11b é uma β_2 integrina que quando ativada liga complemento e fibrinogênio e promove adesão ao endotélio vascular e transmigração para o interior do tecido adjacente. O fenótipo pró-trombótico do monócito CD11b é estimulado, em parte, pela habilidade de influenciar diretamente a cascata da coagulação, por aumentar a expressão do fator tissular e a atividade do fator X (Greilich et al. 2008). É importante notar que a expressão do fator tissular inicia a via intrínseca da coagulação, como visto anteriormente (seção 2.6.1.1-b).

(b.3) Linfócitos

A concentração total de linfócitos diminui progressivamente à medida que a CRVM-CEC se prolonga. Um efeito semelhante ocorre em quase todos os subconjuntos específicos de linfócitos, incluindo linfócitos-B, linfócitos *natural killer*, linfócitos *T-helper* e linfócitos T-supressores (Bayer et al. 2006).

Essa redução mantém-se em torno de três a sete dias do pós-cirúrgico e está associada ao aumento da fagocitose das células brancas e à inibição da habilidade dos monócitos em favorecer o antígeno e sintetizar a IL-1, o que resulta no enfraquecimento da resposta imune celular e no aumento da susceptibilidade à infecção após a CRVM-CEC (Markewitz et al. 1993).

(c) Plaquetas

A CRVM-CEC resulta em um decréscimo do número de plaquetas na ordem de 30% a 50%, além de diminuir suas funções, contribuindo para a coagulopatia que ocorre no pós-operatório. A redução no número de plaquetas surge logo no início da CEC pela diluição que ocorre no circuito preenchido, não sendo esse, porém, o único fator. A adesão na superfície do circuito, o sequestro por certos órgãos e a coagulopatia de consumo também contribuem para esta redução (Pintar & Collard, 2003).

A ativação das plaquetas é multifatorial, com mediadores ativados pela agressão cirúrgica pela heparina, na hipotermia, e pelo contato direto com o circuito da CEC (Paparella et al. 2002). Uma vez iniciada a CEC, baixas concentrações de trombina são produzidas na agressão ao pericárdio e dentro do circuito (Gikakis et al. 1996). A trombina é um potente agonista da plaqueta e parece desencadear a ativação plaquetária. Entretanto, durante a cirurgia a ativação do complemento (C5b-9) é mantida, e são produzidos leucotrienos, plasmina, PAF, contato de superfície e colagenase ativadora de plaquetas (Pintar & Collard 2003).

Quando ativadas, as plaquetas aderem à superfície do circuito que se encontra adsorvido de fibrinogênio, fator de von Willebrand e fibronectina. Elas ativam o complexo de receptores de glicoproteína IIb/IIIa e, então, aderem-se umas às outras formando as chamadas "pontes de fibrinogênio". Também ativam a P-selectina, que contribui na formação do monócito e do neutrófilo conjugado, por ligação da P-selectina com a glicoproteína 1, a PSGL-1 (Paparella et al. 2004).

A expressão da P-selectina também estimula o monócito a ativar o fator tissular, que contribui na formação do trombo. Algumas plaquetas circulam e se ligam, liberando alguns ou todos os seus grânulos, os quais contêm quimioatratores, proteínas da coagulação e substâncias vasoativas.

As plaquetas também contribuem na formação de microêmbolos, a partir de fragmentos rompidos, retirados dos agregados de plaquetas adsorvidos na superfície, de fragmentos de plaquetas e leucócitos que se conjugam, e de

êmbolos de plaqueta e fibrina (Weerasinghe & Taylor 1998). De acordo com a atividade plaquetária e a queda dos seus níveis, novas plaquetas entram na circulação liberadas pela medula óssea.

A CEC tem um profundo efeito sobre a quantidade de plaquetas, embora esse efeito varie entre os pacientes e de acordo com o manuseio do sistema de perfusão. A grande maioria dos pacientes, no entanto, irá exibir trombocitopenia e aumento do tempo de sangramento, que retornam ao normal num período compreendido entre quatro e doze horas (Despotis & Goodnough 2000).

2.6.2 Segunda fase da resposta inflamatória e mecanismos associados

A segunda fase da resposta inflamatória (“fase tardia”) tem sido relatada e acredita-se que esteja relacionada à injúria de isquemia e reperfusão durante e após a cirurgia cardíaca, assim como à endotoxemia, provavelmente devido à liberação de endotoxina da microflora intestinal (Larmann & Theilmeier 2004).

2.6.2.1 Injúria de isquemia e reperfusão

Durante a cirurgia cardíaca, o clampeamento da aorta suspende o suporte de sangue para o coração e quase totalmente para pulmões (mantido pelas artérias bronquiais). Conseqüentemente, o coração e um pouco menos os pulmões se tornam isquêmicos e, com a liberação do clampeamento, ambos são totalmente reperfundidos. Isso favorece a reação inflamatória, que resulta em aumento da permeabilidade capilar, acúmulo do fluido intersticial, leucocitose e coagulopatia, podendo levar à disfunção orgânica.

A injúria de isquemia e reperfusão é mediada pela interação do neutrófilo com o endotélio, como descrito na seção acima. A fase isquêmica provoca níveis elevados de injúria endotelial, resultando na ativação do neutrófilo (fase leucócito-dependente) e de seu sequestro. Entretanto, na reperfusão ocorre injúria leucócito-independente, envolvendo a produção de elevadas quantidades de espécies reativas do oxigênio (ROSs, *reactive oxygen species*) como, por exemplo, ânions superóxidos e peróxido de hidrogênio; a produção e liberação

de metabólitos solúveis do ácido aracdônico (prostaciclina); a liberação de citocinas pró-inflamatórias através das células isquêmicas (TNF- α e interleucinas); a ativação do sistema humoral das proteínas – complemento e coagulação (Hammon 2008).

A reperfusão cria uma elevada concentração de ROSs nas células isquêmicas. O mecanismo ocorre pela depleção das reservas de energia (adenosina trifosfato) e das defesas antioxidantes durante o período isquêmico. Os radicais hiperóxidos afetam particularmente as células endoteliais na microcirculação pelo dano direto na membrana: desnaturam as proteínas e lesam as células através da ruptura local das estruturas, ou entram na circulação para atuar no segundo estímulo da resposta inflamatória (Wan et al. 1997).

(a) Mecanismo leucócito-dependente: ativação dos neutrófilos e interação do entotélio celular

A ativação dos neutrófilos durante a CRVM-CEC pode ocorrer por uma quantidade variável de mediadores quimioatratadores que incluem C3a, C5a, IL6, IL8, TNF α , fator ativador de plaquetas (PAF) e leucotrieno B4. A aderência dos neutrófilos nas células endoteliais é um mecanismo da injúria tissular que provoca dano endotelial por liberação de produtos prejudiciais.

Os neutrófilos degranulam para liberar proteases, collagenases, lipoxigenases, fosfolipases e mieloperoxidase. As serino proteases (ou serino endopeptidases), a elastase e a collagenase são as principais enzimas responsáveis pelo dano mediado pelos neutrófilos, devido parcialmente ao efeito de sua natureza catiônica distribuída ao longo da membrana, ou seja, sua distribuição de cargas. A elastase também hidrolisa os componentes da matriz extracelular composta por elastina, fibronectina e colágeno tipo III e IV (Jordan et al. 1999)

Esta reação de adesão é mediada por moléculas específicas que se manifestam na superfície celular dos polimorfonucleares, sendo que as mais estudadas são as CD11b/CD18. Níveis elevados de CD11b/CD18 têm sido encontrados em estudos clínicos e experimentais. Outras moléculas de adesão, como a E-

selectina, a ICAM-1 e a P-selectina, podem estar envolvidas nesse complexo de reações apenas durante a CEC (Jordan et al. 1999; Pintar & Collard 2003; Greilich et al. 2008).

Estudos em animais sugerem que as moléculas de adesão ativadoras de neutrófilos podem ser as principais responsáveis pelo mecanismo de dano pulmonar, assim como pela injúria miocárdica de reperfusão após a CRVM-CEC. O pré-tratamento através de anticorpo monoclonal anti-CD18 mostra-se eficaz na redução do edema pulmonar que segue a isquemia de reperfusão, evidenciando esse mecanismo (Laffey et al. 2002).

Byrne et al. (2000), em modelo de transplante cardíaco em coelho, demonstraram que o bloqueio das moléculas de adesão antes da reperfusão pode reduzir significativamente a injúria miocárdica. Em pacientes, embora níveis marcadamente elevados de moléculas de adesão não possam ser percebidos durante toda a CEC, a expressão de CD11b/CD18 nos leucócitos aumenta imediatamente após o início da mesma, atingindo um segundo pico após o desclameamento da aorta (Wei et al. 2003; McGuinness et al. 2008). Portanto, prevenir a ação das ICAMs sobre os neutrófilos pode trazer algum benefício, embora, por outro lado, eleve o risco de infecção.

(b) Mecanismo leucócito-independente

(b.1) Liberação de radicais livres de oxigênio

A ativação dos leucócitos resulta também na liberação dos radicais hiperóxidos, incluindo ânion superóxido, peróxido de hidrogênio, radical hidroxila e oxigênio livre. Essa ação sobre a membrana lipídica pode deprimir a função cardíaca e pulmonar por aumentar sua permeabilidade. A medida direta desses agentes hiperóxidos é factível *in vivo*, mas vários métodos indiretos têm sido utilizados para mostrar o aumento da atividade destes radicais durante e após a cirurgia cardíaca, com e sem CEC (Wan et al. 1997; Jordan et al. 1999; Kaminsk et al. 2002).

Iskensen et al. (2006) mostraram uma elevação nos níveis sanguíneos de melondialdeído, um produto da peroxidação lipídica da membrana citoplasmática indicativa dessa agressão pelos radicais hiperóxidos após e durante a CEC. O grau de ativação do complemento também pode ser observado pelo aumento do dano através da peroxidação lipídica da membrana citoplasmática (Chakraborti et al. 2000). Em adição, a injúria de isquemia e reperfusão no coração e pulmões já sugere uma ação na produção dos radicais hiperóxidos ao final da CEC e pode ser avaliada a partir de amostras coletadas na veia cava inferior.

Os radicais hiperóxidos podem debilitar a viabilidade do óxido nítrico e precipitar o vasoespasmo e a trombose após a reperfusão no coração isquêmico (Nonami 1997). Outros fatores, como a temperatura corporal durante a CEC, podem influenciar a produção de radicais hiperóxidos (Paparella et al. 2002; Tavares-Murta et al. 2007).

A preservação do pulmão em hipotermia moderada e ventilado com oxigênio a 100% nas cirurgias cardíacas resulta em elevado dano, causado pelos radicais hiperóxidos, em comparação à preservação em hipotermia severa e ventilado por ar ambiente. Essas observações são concordantes em estudos que demonstram que a temperatura exerce um efeito na interação dos neutrófilos com o endotélio na CEC (Laffey et al. 2002; Warren et al. 2009b).

(b.2) Metabólitos do ácido aracdônico

A produção de prostaglandinas, tromboxanes e leucotrienos envolve o metabolismo do ácido aracdônico por vias como a da ciclo-oxigenase e lipoxigenase, levando à geração de espécies oxidantes. A reperfusão aumenta a degradação da membrana de fosfolípídeos pela ação da fosfolipase A2 e, assim, contribui para o acúmulo de ácido aracquidônico no miocárdio isquêmico. A fosfolipase A2 pode também ser ativada por um aumento na concentração do cálcio intracelular durante a reperfusão.

O tromboxane A2 e as prostaglandinas representam os prostanoides mais importantes (Stangl et al. 2002). O neutrófilo ativado pela isquemia e reperfusão

estimula a fosfolipase A2 e gera o leucotrieno B4 e o PAF. Esses mediadores estimulam a quimioatração, a adesão e a degranulação nas células endoteliais, ampliando o recrutamento de neutrófilos mediados nesse processo, constituindo a primeira fonte de liberação para o fluido pleural contendo tromboxane e prostaciclina durante a CEC (Maxwell & Lip 1997; Jordan et al. 1999).

O tromboxane A2, que possui fortes propriedades vasoconstrictoras, também promove agregação plaquetária. Seus efeitos cessam rapidamente após a CEC. A produção de tromboxane A2 em modelos animais tem sido associada à disfunção miocárdica e à hipertensão pulmonar na CEC (Pintar & Collard 2003). O bloqueio dos receptores de tromboxane A2, ou a inibição de sua síntese, pode reduzir a injúria pulmonar e melhorar a função ventricular após a CEC (Singh et al. 1995; Laffey et al. 2002).

As prostaglandinas PGE1 e PGE2 e a prostaciclina PGI2 são liberadas durante a CEC e têm efeito vasodilatador e de antiagregação plaquetária (Pintar & Collard 2003), tendendo a equilibrar a ação do tromboxane A2 e a exercer um efeito protetor sobre o coração e o pulmão. A prostaciclina pode ter um efeito benéfico maior do que o das prostaglandinas na recuperação do miocárdio. A PGE1 pode ser utilizada no manejo da hipertensão pulmonar durante a CEC (Wan et al. 1997; Pintar & Collard 2003).

Os leucotrienos são potentes agentes de quimioatração e agem aumentando a permeabilidade vascular. Gadaleta et al. (1994) demonstraram haver um aumento na produção e na liberação dos leucotrienos durante a CEC e este estava associado ao tempo de permanência na unidade de pós-operatório. A produção de leucotrienos pode agir como um importante fator na Síndrome da resposta inflamatória sistêmica e na falência múltipla dos órgãos (Wan et al. 1997).

(b.3) Liberação das citocinas

A liberação das citocinas pode ser estimulada por diversos fatores que incluem: a injúria de isquemia e reperfusão, a ativação do complemento, a liberação de endotoxina e também por efeito de outras citocinas (Wan et al. 1996; Misoph & Babin-Abell, 1997).

A elevação nos níveis do TNF- α durante e após a cirurgia tem sido verificada em alguns estudos, mas não em todos. A CRVM-CEC tem sido associada de modo mais consistente com a produção das interleucinas 6 e 8, e os níveis destas associados com a duração da isquemia cardíaca durante a CEC (Kawamura et al. 1993; Tonnesen et al. 1996; Serrano et al. 2010).

Estudos sugerem que o TNF- α pode contribuir para a disfunção do miocárdio e para a instabilidade hemodinâmica subsequente na CRVM-CEC (Wan et al. 1996; Wan & Yim 1999). Também tem sido sugerido que a elevação da interleucina 6 está associada com a disfunção miocárdica, porém seus efeitos hemodinâmicos ainda são questionáveis (Moura et al. 2001; Misoph & Babin-Abell 1997).

A interleucina 8 é um potente quimioatratador para os neutrófilos, o que produz efeitos sobre o parênquima pulmonar em razão do sequestro de leucócitos, podendo provocar injúria do pulmão durante a CEC. A liberação dessas citocinas para o pulmão pode contribuir para o desencadeamento da disfunção de múltiplos órgãos. Em resposta à agressão inflamatória, ocorre a liberação de interleucinas com ação antiinflamatória, como a interleucina-10, a fim de restabelecer o equilíbrio orgânico frente às demais citocinas com ação pró-inflamatória (Horton et al. 1999; Moura et al. 2001).

A produção de interleucinas relaciona-se ao órgão que sofre a ação da injúria de reperfusão. Alguns estudos têm demonstrado que o miocárdio, quando reperfundido, torna-se uma importante fonte de liberação de TNF- α e das interleucinas 6 e 8 e o fígado e os pulmões, da interleucina 10 (Wan et al. 1996; Misoph & Babin-Abell 1997).

(b.4) O fator ativador de plaquetas

O fator ativador de plaquetas (PAF) é um fosfolípídeo sintetizado em várias células, incluindo as plaquetas, as células do endotélio vascular e possivelmente as do miocárdio (Wan et al. 1997).

O PAF é assim denominado por sua descoberta ter sido originalmente associada às propriedades de ativação e agregação das plaquetas. No entanto, os receptores para o PAF podem estar presentes não apenas nas plaquetas, mas também nos neutrófilos, monócitos e células endoteliais. Ele é um potente quimioatratador dos neutrófilos, ativador e agregador, e tem um papel essencial na injúria de isquemia e reperfusão do miocárdio (Wan et al. 1997; Larmann & Theilmeier 2004).

O PAF revela ter efeitos deletéreos sobre a função cardíaca e a estabilidade hemodinâmica em estudos experimentais. Sua ação mediadora é verificada na injúria cardiopulmonar durante a CRVM-CEC. Estudos em que a inibição do PAF era induzida mostraram redução da morbidade após CRVM-CEC com resultados controversos (Wan et al. 1997; Taggard 2000).

2.6.6.2 Endotoxemia

(a) Liberação de endotoxinas

A endotoxina é um polissacarídeo da parede celular das bactérias gram-negativas, sendo reconhecida como o maior estímulo para o desenvolvimento da resposta inflamatória sistêmica. A endotoxemia em pacientes submetidos à CRVM-CEC tem sido largamente reconhecida, mas as considerações sobre a sua magnitude variam entre os estudos (Rocke et al. 1987; Klein et al. 2011).

Existem várias possíveis fontes de liberação das endotoxinas durante a CEC, sendo que a patogênese deste fenômeno não está completamente elucidada. Entretanto, a translocação intestinal tem sido tradicionalmente considerada como a primeira fonte de sua liberação, cujo mecanismo decorre da vasoconstrição esplâncnica, da diminuição do fluxo sanguíneo, levando à isquemia da mucosa entérica e facilitando a permeabilidade intestinal durante a CEC (Aydin et al. 2003).

Entretanto, esses postulados são difíceis de demonstrar *in vivo*, mas alguns

investigadores têm procurado estabelecer possíveis relações com algumas variáveis, tais como duração da CEC, permeabilidade intestinal e níveis de endotoxina no final da cirurgia. O aumento dos níveis das endotoxinas resultantes da CEC é reconhecido por ativar complemento pela via alternativa, estimulando a liberação de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , p. ex.); ativar óxido nítrico; e aumentar o consumo de oxigênio no pós-operatório (Ohri et al. 1993; Riddington et al. 1996; Oudemans et al. 1996).

(b) Liberação do óxido nítrico

O óxido nítrico corresponde ao fator relaxante derivado do endotélio e é o principal regulador do fluxo sanguíneo e do tônus vasomotor. Com esta ação, ele previne a formação de trombo, inibindo a adesão das plaquetas ao endotélio. É normalmente liberado pelas células endoteliais através da conversão do aminoácido L-arginina em L-citrulina, pela enzima oxidonítrico sintetase. Entretanto, possui uma meia vida curta, sendo constantemente sintetizado e rapidamente oxidado para nitrito e logo convertido em nitrato. A óxido nítrico sintetase é uma enzima cálcio-dependente encontrada no endotélio vascular e responsável pela produção de pequenas quantidades de óxido nítrico endógeno, que tem um papel importante na manutenção do fluxo sanguíneo capilar e na regulação da função celular (Pintar & Collard 2003; Zweier & Talukder 2006).

Na formação e liberação de óxido nítrico, também ocorre uma isoforma que é cálcio-independente, produzida pela enzima óxido nítrico sintetase e identificada inicialmente nos macrófagos, sendo ativada por endotoxinas e citocinas. Essa ativação, presente na resposta inflamatória, produz uma maior quantidade de óxido nítrico cálcio-independente em relação à forma essencial (Shultz & Wambolt 1995).

Estudos demonstram que a produção de óxido nítrico aumenta significativamente durante e após a CRVM-CEC (Tavares-Murta et al. 2007). Na CEC, a administração de heparina contribui para a liberação de óxido nítrico e durante a resposta inflamatória, as citocinas pró-inflamatórias podem, por sua vez, aumentar esta liberação (Nonami 1997; Beltrán et al. 1999; Laffey et al. 2002).

(c) Ativação do complemento

As endotoxinas liberadas na circulação podem ser suficientes para ativar a via clássica e a via alternativa. A ativação do complemento gera diversos produtos ativos intermediários, como as anafilatoxinas C3a e C5a, que provocam a liberação de histamina pelos basófilos e pelos mastócitos, aumentando a permeabilidade vascular e estimulando os glóbulos brancos a liberar radicais hiperóxidos e enzimas lisossômicas. O C3a é um potente estimulador da agregação plaquetária, enquanto o C5a estimula a agregação dos neutrófilos e a aderência nas células endoteliais (Taggard et al. 1994; Pintar & Collard 2003; McGuinness et al. 2008).

A ativação do complemento e a hemodiluição são amplamente responsáveis pela queda na contagem dos polimorfonucleares, observada durante a CEC (Boralessa et al. 1982). Alguns investigadores têm demonstrado que níveis elevados de C3a ocorrem durante a CRVM-CEC e que esses níveis mantêm-se elevados após a cirurgia, estando associados à duração da CEC (Ascione et al. 2000; Diegeler et al. 2000). Os níveis de C5a são mais difíceis de determinar, pois eles se aderem rapidamente aos neutrófilos, mas incrementos de seus níveis e dos níveis de seu subproduto, o C5b-9, têm sido documentados (Kulkarni & Afshar-Kharghan 2008; McGuinness et al. 2008).

A relevância clínica da ativação do complemento ainda continua incerta. Alguns estudos têm descrito maior morbidade no pós-operatório pela ativação do complemento. Kirklin et al. (1983) demonstraram que níveis de C3a mensurados três horas após a CRVM-CEC podem predizer a ocorrência de complicações.

Wan et al. (1997) reportaram que níveis elevados de C3a são encontrados em pacientes que necessitam de ventilação artificial prolongada. Outros autores sugerem correlação entre ativação do complemento e injúria pulmonar ou resposta hemodinâmica insatisfatórias (Tennenberg et al. 1990; Gillinov et al. 1993).

Seghaye et al. (1993) verificaram que crianças com falência múltipla dos órgãos

após a CEC apresentavam níveis mais elevados de C3 convertido em C3d. Essas diferenças nos níveis de C3d mostram a complexidade da natureza da reação inflamatória e que o sistema do complemento é apenas um dos fatores envolvidos (Laffey et al. 2002).

(d) Liberação de citocinas

A reperfusão tem como objetivo recuperar o tecido após um período imposto de isquemia protegida na CRVM-CEC. Entretanto, a bioquímica e a fisiologia da resposta à injúria envolvem uma ação de defesa imunológica contra bactérias e outros invasores.

No momento da reperfusão, o sangue interrompe o processo isquêmico, suprindo o tecido de oxigênio e nutrientes e uma cascata de eventos com propriedades similares à resposta inflamatória é iniciada rapidamente. A ação dos neutrófilos tem sido considerada um mecanismo primário e fundamental na injúria de isquemia e reperfusão, envolvendo o estímulo e a produção de diversos componentes, entre eles as citocinas pró e antiinflamatórias (Figura 2.10).

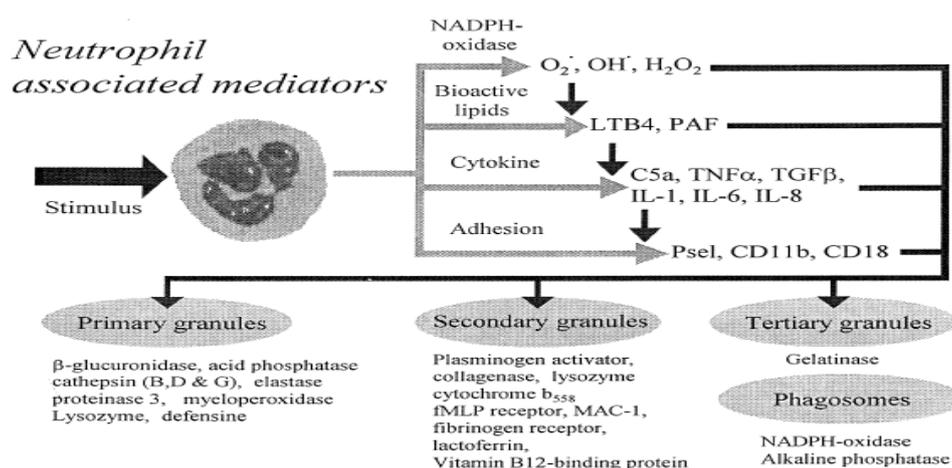


Figura 2.10 - Mediadores dos neutrófilos e liberação de grânulos. Fonte: Vermeiren et al. (2000)

As citocinas que ativam os neutrófilos aumentam suas propriedades de adesão e, conseqüentemente, a rigidez da estrutura celular, a qual previne a adaptação da forma e das dimensões do capilar. Os neutrófilos ativados tendem a embolizar no

vaso pré-capilar e com isso contribuem para o aumento da resistência vascular e para a ocorrência do fenômeno do “não-refluxo” (Jordan et al. 1999).

Schmid-Schönbein (1987) evidenciaram que uma das sequelas mais precoces da reperfusão é o fenômeno do “não refluxo”. Eles observaram que os vasos submetidos à injúria de isquemia e reperfusão apresentavam um acúmulo excessivo de leucócitos na área de risco. Outros pesquisadores demonstraram que a remoção dos neutrófilos através de terapia anti-neutrofílica, provocada pela perfusão sanguínea, reduzia a extensão do fenômeno e a concomitante formação de edema tecidual (Jordan et al. 1999; Weyrich et al. 1995).

2.7 OUTROS FATORES RELACIONADOS À RESPOSTA INFLAMATÓRIA NA CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

(a) Liberação de endotelinas

A endotelina-1 é um peptídeo com resíduo de 21 aminoácidos, liberada pelo endotélio. Ela é o mais potente vasoconstrictor endógeno observado e está envolvida na regulação do tônus arterial. As endotelinas podem contribuir para eventos patológicos pulmonares, como a asma, a síndrome da angústia respiratória e a hipertensão pulmonar. As intervenções cirúrgicas para correção de defeitos congênitos ou de lesões vasculares podem reduzir a pressão na artéria pulmonar e isso tem sido correlacionado ao decréscimo dos níveis plasmáticos de endotelina-1 (Wan et al. 1997).

Zhu et al. (1987) encontraram níveis plasmáticos de endotelina-1 mais elevados no final da CRVM-CEC e correlacionaram o achado à duração da CEC. Outros autores demonstraram também que a liberação de endotelina-1 após a CEC ocorre na CRVM e pode levar à isquemia miocárdica severa, não sendo liberada pelo endotélio coronariano ou miocárdio. De modo interessante, o *clearance* de endotelina pulmonar pode ser inibido após a remoção do clampeamento da aorta no final da cirurgia. Com base nisto, alguns pesquisadores concluem que, de fato, o pulmão é um importante sítio para absorver e produzir endotelina-1 estimulando o acúmulo de neutrófilos e, conseqüentemente, influenciando a resposta

inflamatória (Wan et al. 1997; Pintar & Collard, 2003).

O aumento da concentração da endotelina-1 também tem sido relacionado com os níveis de endotoxina durante a CRVM-CEC. Os efeitos vasoconstritores da endotelina-1 podem contribuir para a hipoperfusão intestinal, a qual promove a liberação de endotoxina na circulação que, conseqüentemente, estimula a secreção de endotelina pelas células endoteliais (Velthuis et al. 1996).

McGowan et al. (1995) relataram que a isquemia e reperfusão podem elevar a endotelina-1, induzindo a vasoconstrição coronariana. Entretanto, esses efeitos vasoconstritores podem ser revertidos pela nitroglicerina. A alteração da relação entre a produção endotelial de endotelina-1 e de óxido nítrico pode afetar o fluxo coronariano, tornando-o insuficiente e dificultando a recuperação ventricular.

(b) Fator nuclear kB

O fator nuclear kB (NF-kB) é um fator de transcrição indutor ubíquo, envolvido na regulação da transcrição de vários genes pró-inflamatórios. O NF-kB estimula e regula diferentes moléculas pró-inflamatórias: tumor de necrose (TNF- α e TNF- β); fator estimulador de colônias (G-CSF e GM-CSF); interleucinas (IL-1 β , IL2, IL6, IL12); interferon (IFN- β); quimiocinas (IL8, Gro α, β, γ); moléculas de adesão (ICAM-1, E-selectina, V-CAM); e enzimas (COX-2, iNOS). Na resposta inflamatória (Figura 2.11), o NF-kB é estimulado por trauma cirúrgico, superfícies não endotelizadas da CEC, endotoxemia e isquemia; e pelos mediadores C3a, C5a, IL1, IL2, IL6, IL8, IL10, TNF α , iNOS e ROLs (McGuinness et al. 2008; Paparella et al. 2002).

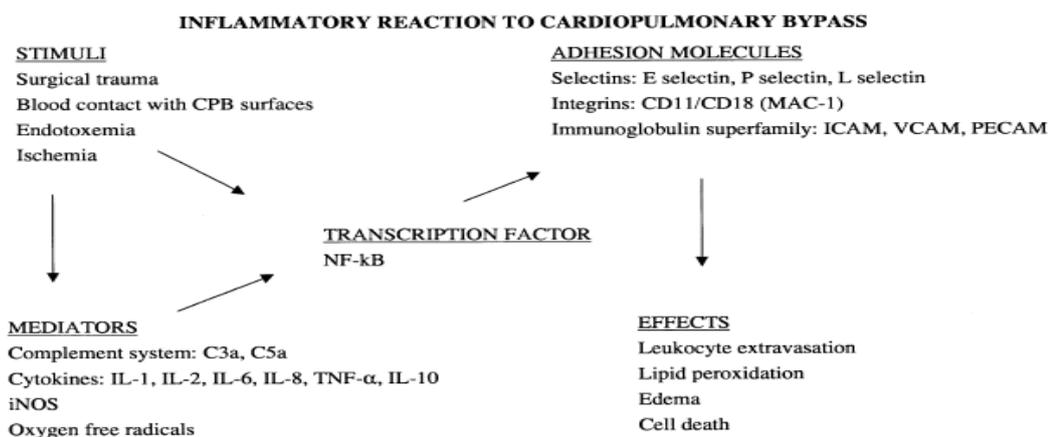


Figura 2.11 Papel do NF-κB na resposta inflamatória induzida pela circulação extracorpórea. Fonte: Papparella et al. (2002)

A translocação do NF-κB na resposta inflamatória para o núcleo, onde liga-se ao DNA, é induzida pela expressão de alguns mediadores pró-inflamatórios. São eles: iNOS, citocinas, moléculas de adesão, complementos e radicais hiperóxidos (Figura 2.12).

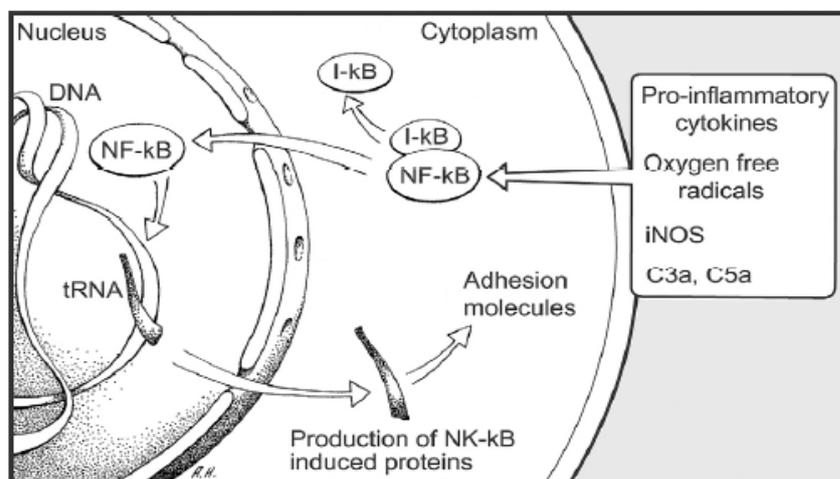


Figura 2.12 Vias de produção de NF-κB e de moléculas de adesão. Fonte: Papparella et al. (2002)

Alguns agentes podem inibir a ativação do NF-κB, atuando como estratégias terapêuticas possíveis (antioxidantes, corticosteroides e indutores da tolerância a endotoxinas). Atualmente, a inibição do NF-κB pelos antioxidantes tem sido também estudada. Em parte, isso se deve ao fato de os ROLs constituírem um fator de ligação que medeia a ativação do NF-κB através de vários estímulos pró-

inflamatórios. Quatro linhas de evidência sustentam o papel dos ROLs na ativação do NF-kB: o tratamento direto com oxidantes como o H₂O₂ ativa o NF-kB em algumas células; agentes que ativam o NF-kB nas células produzem estresse oxidativo; antioxidantes têm sido utilizados para inibir a ativação do NF-kB *in vivo* e *in vitro*; a autorregulação das defesas pelo antioxidante endógeno tem suprimido a ativação do NF-kB (Christman et al. 1998).

(c) Radicais hiperóxidos

Como visto em mais detalhes na seção 2.3, o mecanismo de isquemia e reperfusão envolvido na CEC desempenha um papel importante na formação e liberação dos radicais hiperóxidos. A reperfusão e o dano do tecido que se associam às mudanças celulares durante a isquemia, assim como a fisiopatologia característica da injúria de reperfusão, trazem como consequência a liberação de ROLs. Esse mecanismo pode explicar a produção de radicais hiperóxidos durante a isquemia miocárdica e sua relação com a resposta inflamatória, como será visto a seguir.

McCord (1987) já apontava para o papel principal que o radical superóxido tem no processo inflamatório. Ele ativa o fator quimiotático latente, presente no fluido extracelular, e com isso capacita a ativação do neutrófilo (o qual libera mais radical superóxido para o fluido extracelular) para produzir substância quimioatratora, estimulando outros neutrófilos inativos mais próximos para o sítio da agressão.

Essa substância quimioatratora, dependente do radical superóxido, consiste de um elemento lipídico pouco conhecido que se liga de forma não covalente à albumina sérica. Tanto a albumina do soro como o lipídio são componentes necessários para que a atividade quimioatratora seja desencadeada. Uma incomum, se não única, propriedade dessa particular capacidade quimioatratora é atrair neutrófilos sem estimular, a princípio, a degranulação ou o metabolismo oxidativo.

A relação entre injúria de isquemia e reperfusão e a inflamação pode ser postulada por um dos vários fatores quimiotáticos, independentes do ânion superóxido. As células danificadas pelos radicais hiperóxidos também liberam substâncias quimiotáticas. Em qualquer dos eventos, a chegada de neutrófilos e sua subsequente ativação por fatores liberados pelas células danificadas recebem um segundo insulto adicional pelo ânion superóxido (Figura 2.13). É importante ressaltar que ocorre uma primeira agressão pelos radicais hiperóxidos na injúria de reperfusão após a CEC e, subsequentemente, uma segunda onda de liberação de radicais hiperóxidos pelos polimorfonucleares, principalmente neutrófilos e monócitos em sua fase de fagocitose (Pavelková et al. 2006).

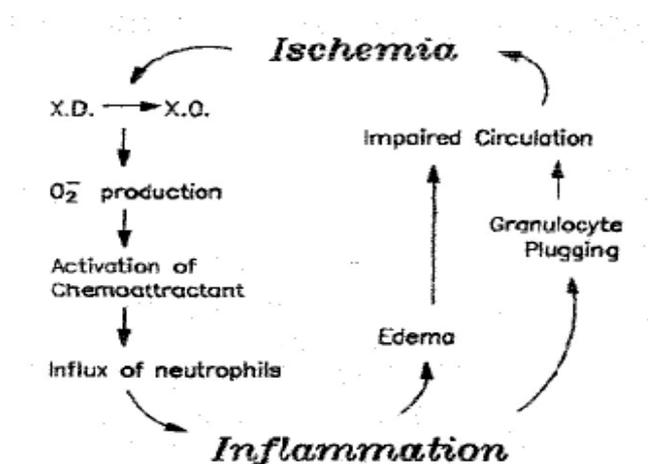


Figura 2.13 - Relação entre injúria de isquemia e inflamação. Fonte: McCord (1987)

Jordan et al. (1999) descrevem os efeitos finais da liberação dos radicais livres de oxigênio, em que os ânions superóxidos são produzidos através dos neutrófilos associados à NADPH-oxidase. Os neutrófilos, estimulados por mediadores, produzem ânions superóxidos, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila, levando a uma intensificação da produção de citocinas, caracterizada por elevada atividade metabólica.

O dano causado ao endotélio, mediado pelos radicais hiperóxidos, resulta no aumento da permeabilidade, na aderência de neutrófilos e na redução da liberação de substâncias e de fatores derivados do endotélio. Esses fatores, compostos por óxido nítrico e adenosina, passam a não interagir com os neutrófilos, aumentando ainda mais a resposta do endotélio aos agentes pró-inflamatórios.

2.8 PROTEÍNAS DE FASE AGUDA

A reação inflamatória, chave central de qualquer processo de cicatrização tecidual, consiste de vias humorais, celulares e moleculares. Em 1930, alterações que ocorriam à distância do foco de inflamação despertaram interesse com a descoberta da proteína C-reativa (PCR), assim chamada por reagir com o polissacarídeo-C do pneumococo no plasma de pacientes durante a fase aguda da pneumonia por esse patógeno (Gabay & Kushner 1999).

Nas alterações sistêmicas, descritas como reações de fase aguda, podem ocorrer alterações na concentração de muitas proteínas plasmáticas, denominadas proteínas de fase aguda, e em uma enorme gama de alterações fisiológicas, bioquímicas e nutricionais. Proteínas de fase aguda têm sido definidas como aquelas cujas concentrações plasmáticas aumentam (positiva) ou diminuem (negativa) em, no mínimo, 25% durante insultos inflamatórios. Durante a fase aguda, a PCR pode aumentar em até 1000 vezes seu nível sérico (Morley & Kushner 1982).

A PCR é uma proteína de fase aguda liberada pelos hepatócitos após o estímulo de mediadores inflamatórios como a IL-6 e a IL-8, com meia-vida em torno de cinco a sete horas. Sua dosagem não é influenciada por fatores como anemia e alterações dos níveis plasmáticos de outras proteínas. Eleva-se rapidamente com o início da doença (em torno de seis horas após o início da inflamação ou lesão celular) e decresce tão logo ocorra a resolução do processo inflamatório ou a instituição da terapêutica adequada. Tem propriedades pró-inflamatórias e antiinflamatórias. Ativa o sistema do complemento após a ligação com polissacárides bacterianos ou fragmentos de membranas celulares (Gabay & Kushner 1999).

A PCR previne a aderência de granulócitos às células endoteliais e a síntese de superóxidos. Diversos estudos evidenciam altos níveis plasmáticos da PCR em pacientes com infecção ou sepse, enquanto outros falham em mostrar um impacto dos níveis elevados da PCR no diagnóstico e prognóstico de tais afecções (Petajä et al. 2001; Biancari et al. 2003; Raivio et al. 2007; Danese et al. 2010, entre outros). Por ter seus níveis elevados nas infecções bacterianas, é usada na monitorização de infecção no pós-operatório: em casos não complicados, atinge um pico máximo

entre 48 e 72 horas, retornando aos níveis normais entre o quinto e o sétimo dia (Zouki et al. 1997).

Nos últimos dez anos, entretanto, a PCR ganhou mais importância, ao ser considerada um marcador de risco para doença cardiovascular aterosclerótica. Correia & Esteves (2011), em ensaio prospectivo, associam a PCR a eventos clínicos cardiovasculares no seguimento de longo prazo. Serrano et al. (2010), também em ensaio prospectivo, analisam os níveis de PCR no pós-operatório e sua relação com mortalidade hospitalar e mortalidade após 12 meses, comparando pacientes submetidos à CRVM com e sem CEC. Os autores não observaram diferenças significativas entre os dois grupos estudados no que diz respeito aos níveis de PCR, nem aumento da incidência de mortalidade.

2.9 TERAPIA METABÓLICA

2.9.1 Moduladores metabólicos

Devemos considerar que o metabolismo energético do coração, durante a isquemia e durante a reperfusão, está intimamente relacionado com a função cardíaca, constituindo um ponto importante da intervenção terapêutica. Essa ação pode ser atingida atuando-se em três níveis:

- Aumentando a glicólise miocárdica, seja incrementando a extração de glicose durante a isquemia ou aumentando os níveis de glicogênio antes do procedimento cirúrgico que leve a isquemia (ex: cirurgia de *bypass* ou transplante cardíaco)

- Ativando diretamente o complexo piruvato-desidrogenase e aumentando a oxidação dos carboidratos

- Inibindo a oxidação dos ácidos graxos, aumentando-se assim a oxidação dos carboidratos

(a) Aumento do suplemento de glicose ao coração

A presença de glicose durante o período hipóxico também tem um papel importante na prevenção do dano por reoxigenação. Quando o músculo papilar cardíaco é privado de glicose e oxigênio, aparecem arritmias dependentes de Ca^{++} , e quando a glicose é mantida durante o período hipóxico, previne o desenvolvimento de arritmias durante a reperfusão e a contratatura isquêmica produzida nesse período. Isso pode ser explicado por dois mecanismos propostos. Um deles sugere que a glicose atua como agente antioxidante, mantendo o fluxo através da via das pentoses e, portanto, mantendo níveis altos de NADPH e, em consequência, o glutamato reduzido em piruvato. O outro mecanismo propõe que a glicose mantém um contínuo aporte de energia e com isto conserva o controle do Ca^{++} citosólico (Opie 1995).

Os níveis plasmáticos de insulina regulam diretamente o metabolismo miocárdico de carboidratos, através da estimulação do transporte de glicose ao interior do miócito, ao incrementar a incorporação de GLUT 1 e GLUT 4 à membrana sarcolêmica, e indiretamente, ao inibir a lipólise nos adipócitos, diminuindo os níveis de ácidos graxos (Young et al. 1997).

Tem sido demonstrado, também, que agregar glicose durante a reperfusão produz recuperação quase total da função contrátil e preservação dos níveis de ATP e fosfocreatina (Vanoverschelde et al. 1994).

A solução de glicose-insulina-potássio (GIK), inicialmente denominada "solução polarizante" por Sodi-Pallarés et al. (1962), e posteriormente, "varredor de radicais livres" por Hess et al. (1984), foi utilizada com a finalidade de melhorar a função contrátil do miocárdio isquêmico.

O estudo DIGAMI apoia o uso da glicose para prevenir o dano por reperfusão em pacientes diabéticos tratados com insulina e glicose, que tem demonstrado reduzir a mortalidade em um ano (Malmberg et al. 1995). Os benefícios da GIK também foram observados em estudos prospectivos e randomizados com pacientes submetidos à cirurgia cardíaca, com melhoria da função cardíaca e menor necessidade de suporte inotrópico (Lazar et al. 1997).

(b) Aumento da oxidação da glicose

Taegtmeyer et al. (1998) demonstraram que a estimulação da oxidação da glicose durante e após isquemia pode beneficiar o coração isquêmico ao melhorar o acoplamento da glicólise durante oxidação da glicose, reduzindo a produção de prótons e a acidose no tecido com melhora na eficiência cardíaca.

Farmacologicamente, a oxidação da glicose pode aumentar, por estimular diretamente a piruvato-desidrogenase, ou indiretamente, por diminuir a ação intramitocondrial de acetyl-Coa/CoA:

(c) Ativação do complexo piruvato-desidrogenase

Dicloroacetato é o protótipo que atua inibindo a piruvato-desidrogenase-quinase, prevenindo a fosforilação – inativação do complexo piruvato-desidrogenase. Ele conduz a um aumento na oxidação da glicose e do lactato e à elevação da acetyl-CoA mitocondrial derivada dos carboidratos, com redução do MVO₂ e dos indicadores de estresse isquêmico em modelo experimental de oclusões breves (Kahles et al. 1982), com recuperação da função mecânica após isquemia (Lopaschuk 1999).

(d) Diminuição da ação da acetyl-Coa/CoA

A isquemia produz rápida inibição dos processos oxidativos e redução de carnitina livre com consequente aumento de ácidos graxos livres e metabolitos intermediários (como a acetyl-Coa de cadeia larga). O acúmulo desses metabolitos leva a efeitos prejudiciais sobre as células, como a desintegração de membranas e a inibição da atividade enzimática (Opie 1979).

Liedtke et al. (1988) demonstraram experimental e clinicamente a ação benéfica da L-carnitina na isquemia miocárdica que exercia um efeito cardioprotetor mitocondrial. Ela favorece o transporte de ácidos graxos ao interior da mitocôndria, onde se encontram enzimas necessárias para levar adiante o processo de oxidação com produção de energia (ATP).

(e) Inibição da oxidação dos ácidos graxos

O aumento da oxidação dos ácidos graxos diminui a oxidação da glicose e o inverso desse metabolismo é a inibição dos ácidos graxos mediante dois mecanismos: inibição direta da beta oxidação e inibição da carnitina-palmitol-transferase (Lopaschuk 1999; Gambert et al. 2005).

2.9.2 A substância trimetazidina

A Tmz (1-(2,3,4-trimetoxibenzil) cloridrato de piperacilina), substância que é objeto deste estudo, foi introduzida na medicina há mais de trinta anos para o tratamento clínico da isquemia. Desde então, investigações experimentais têm sido realizadas para determinar seu mecanismo de ação.

2.9.2.1 Farmacocinética

Dentre os estudos de farmacocinética realizados em adultos saudáveis, Royer (1986) demonstra que a Tmz:

- É absorvida rapidamente em quase sua totalidade no nível do trato gastrointestinal, tendo biodisponibilidade elevada por apresentar um metabolismo de primeira passagem hepática mínima
- Redução dos componentes da cadeia respiratória como citocromo C1
- Sua capacidade de união com as proteínas plasmáticas é baixa e limita o risco de interação com outros fármacos de elevada união às proteínas plasmáticas
- Sua cinética é independente da via de administração (oral ou iv) e com o tempo de uso, de maneira que não existem riscos de acúmulo após administração prolongada
- Apresenta uma relação linear entre sua cinética e a dose administrada;
- Apresenta amplo volume de distribuição

- Não é metabolizada de forma importante em seres humanos, com uma fase hepática reduzida eliminada por via urinária

Tabela do fármaco

Vida plasmática (1/2) $5,95 \pm 0,50$ h.

Biodisponibilidade oral: $0,971 \pm 0,173$.

Velocidade de depuração total: $39,36 \pm 3,53$ l/h.

Volume de distribuição: $313 \pm 49,1$ L.

Concentração plasmática máxima: $27,5 \pm 13,0$ ng/ml.

(Royer 1986)

2.9.2.2 Atividade farmacológica

Os trabalhos experimentais realizados mostram que a Tmz atua no nível do metabolismo celular, opondo-se ponto a ponto a todas as consequências que o déficit de oxigênio induz na célula isquêmica, comportando-se como um agente anti-isquêmico. Dessa maneira, foi observado que a Tmz:

- Limita a acidose intracelular (Renaud 1988; Gossmann et al. 1996)
- Reduz o acúmulo de Na^+ e Ca^{++} (Renaud 1988)
- Mantém concentrações intracelulares de ATP e diminui a liberação de creatinofosfoquinase (Allibardi et al. 1998; Aussedat et al. 1993)
- Protege a membrana celular frente aos danos dos radicais livres (Maridonneau-Parini & Harpey 1985; Opie 1995; Sentex et al. 1998)
- Inibe a infiltração e mediação de Neutrófilos na reperfusão (Williams et al. 1993; Tritto I. 2005)
- Inibe a abertura dos poros transitórios na membrana mitocondrial, prevenindo efeitos celulares irreversíveis (Argaud et al. 2005)
- Reduz a liberação de endotelina-1 (Monti et al. 2001; Di Napoli & Barsoti

2007)

2.9.2.3 Tolerância e toxicidade

Os estudos de toxicologia efetuados com a Tmz mostram que:

- A dose máxima tolerada é muito superior à dose terapêutica
- A sintomatologia clínica comprovada com doses importantes está relacionada com atividade indutora de vasoplegia
- Avaliada a Tmz frente aos seus efeitos (epigastalgia, náuseas e vômitos; cefaléia e prurido), verificou-se que estes não ultrapassam os obtidos com placebo (Monpere et al. 1990)

2.9.2.4 Mecanismo de ação específico

A ação da Tmz nas alterações do metabolismo cardíaco durante a isquemia abriu caminho para uma abordagem terapêutica adicional. Com sua ação anti-isquêmica, reduz os danos metabólicos provocados durante a isquemia, por agir numa etapa crítica do metabolismo cardíaco, bloqueando a Beta-oxidação dos ácidos graxos, através da inibição da 3-acetil-CoA tiolase de cadeia longa (Figura 2.14).

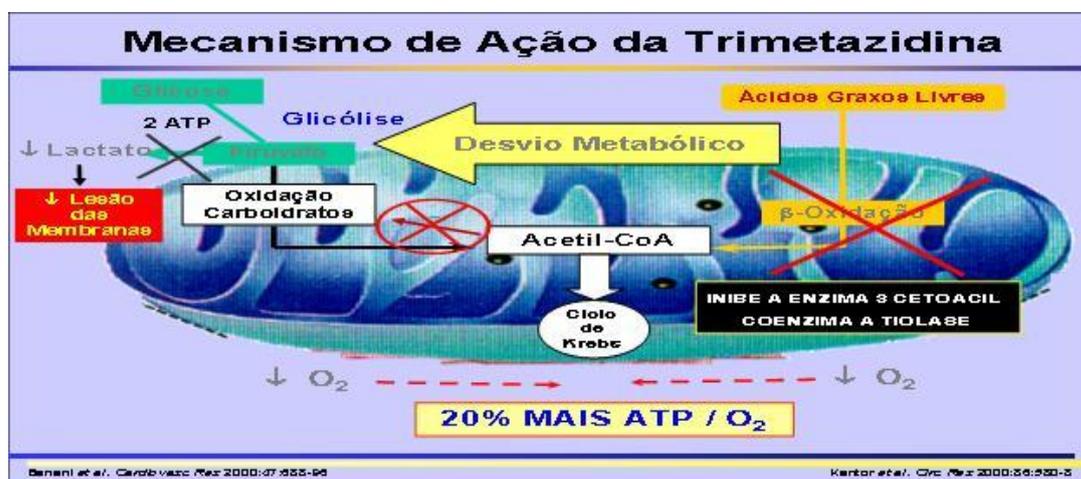


Figura 2.14 - Mecanismo de ação da trimetazidina. Fonte: Banani et al. (1998)

Esse efeito anti-isquêmico resulta no aumento da oxidação da glicose, adicional à glicólise, tendo como consequência a redução de prótons, que por sua vez eleva o pH intracelular e melhora a acidose tecidual, recuperando a eficiência cardíaca. Como resultado do incremento da oxidação da glicose pelo desvio metabólico, ocorre queda na oxidação dos ácidos graxos (Lopaschuk et al. 2000).

Em vários ensaios clínicos, pode ser verificada a ação da Tmz sobre os radicais hiperóxidos. Gambert et al. (2006) avaliaram experimentalmente a ação da trimetazidina através de perfusatos contendo glicose ou palmitato, adicionado ou não com Tmz, demonstrando níveis mais baixos de marcadores de radicais hiperóxidos mensurados pela ressonância por espectroscopia no grupo tratado.

Ruixing et al. (2007) verificaram em modelo experimental a ação dos radicais hiperóxidos pela mensuração da elevação na superoxidesmutase, assim como queda do melanaldeído no grupo tratado com a Tmz em relação ao grupo placebo.

Iskesen et al. (2006) também verificaram em modelo experimental que o grupo pré-tratado com 60 mg de Tmz, quando submetido ao desclampeamento aórtico, apresentava menor produção do melanaldeído, um produto da peroxidação lipídica dos ácidos graxos insaturados e marca da degradação oxidativa da membrana celular.

Os efeitos da Tmz sobre a acidose isquêmica foram estudados por meio de técnicas não invasivas de espectroscopia, por ressonância nuclear magnética em corações de ratos submetidos à isquemia de baixo fluxo. Ao acrescentar a substância à perfusão, a acidose intracelular se desenvolvia mais lentamente e o pH intracelular melhorava significativamente ao final do período isquêmico (Pantos et al. 2005). Em estudo de Albengres et al. (1998), após a reperfusão, os níveis de ATP e fosfato de creatina foram mais rapidamente recuperados no grupo que recebeu perfusão com Tmz.

Os pacientes tratados apresentaram aumento de 54% na recuperação funcional durante a reperfusão, comparativamente aos controles. Também foi observado aumento na produção e *turnover* de ATP na isquemia/reperfusão, com ganhos na função mecânica durante reperfusão.

Resultados de Capdevila et al. (2001) mostraram que a Tmz protegia a viabilidade do miocárdio após ligação prolongada da artéria coronária em animais tratados com a droga, havendo também redução significativa da extensão do infarto em relação ao grupo controle.

Turnerir et al. (1999) avaliaram dois grupos de pacientes submetidos à CRVM em ensaio duplo cego, randomizado e controlado com placebo. O uso da Tmz com pré-tratamento de três semanas em dose de 60mg/dia mostrou que os níveis de troponina T e CPK-Mb apresentaram curvas com 5 min, 12, 24 e 48h do desclameamento aórtico com valores estatisticamente significativos nos pacientes em classe funcional III e IV.

Como mencionado em diferentes partes desta seção final, resumidamente, a Tmz aumenta a tolerância celular, mantendo a homeostase, limitando a acidose e inibindo o acúmulo de sódio e cálcio intracelular. Adicionalmente, mantém os níveis de ATP, preserva a função mitocondrial, reduz o metabolismo dos ácidos graxos miocárdicos, protege contra o dano da membrana induzida pelos radicais livres de oxigênio e inibe a infiltração dos neutrófilos (Ruixing et al. 2007).

CAPÍTULO 3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO PRINCIPAL

- Avaliar o efeito da trimetazidina (Tmz) na resposta inflamatória ao término da cirurgia de revascularização do miocárdio com circulação extracorpórea na evolução do pós-operatório, através dos seguintes marcadores inflamatórios: interleucinas 6 e 8, fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), dosagem do complemento C3 e C5, e a PCR-us.

3.2 OBJETIVO SECUNDÁRIO

- Analisar a variação de leucócitos totais, neutrófilos e monócitos antes e após a CRVM-CEC.

CAPÍTULO 4. METODOLOGIA

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Ensaio clínico prospectivo, duplo-cego, randomizado e controlado por placebo.

4.2 CASUÍSTICA

Os pacientes voluntários que participaram do presente estudo foram matriculados no Instituto Estadual de Cardiologia Aloysio de Castro (IECAC), Rio de Janeiro, oriundos dessa Instituição, ou encaminhados por outras unidades hospitalares do Estado do Rio de Janeiro, para acompanhamento regular no Ambulatório de Doença Coronariana, sendo avaliados por equipe interdisciplinar quanto à necessidade de cirurgia de revascularização do miocárdio (CRVM).

Os critérios utilizados para a seleção dos trinta pacientes desta pesquisa prosseguiu com metodologia coordenada pelo Prof. Dr. Alexandre Lourenço Lopes. Um estudo inicial, conduzido entre 2007 e 2008, para avaliar a diferença nos marcadores sorológicos de injúria miocárdica (troponina-T e CpK-Mb), foi finalizado com sessenta pacientes, distribuídos em grupo tratado (com trimetazidina – Tmz) e grupo placebo (cf. Martins 2008; Martins et. al. 2011). Dessa amostra, foram selecionados aleatoriamente para este estudo 15 pacientes de cada grupo, para dosagem dos seguintes marcadores inflamatórios: IL6, IL8, TNF- α , C3, C5, leucócitos totais, neutrófilos, monócitos e PCR-us.

Duas sorotecas da amostra total do primeiro estudo, com sessenta coletas de cada momento da pesquisa (pré-operatório; 5 minutos do desclameamento da aorta; e 12, 24 e 48 horas após a cirurgia), foram enviadas para cada um dos dois laboratórios envolvidos. O primeiro, responsável pela análise das interleucinas, estava localizado na central do DASA (Diagnóstico das Américas) e o segundo, responsável pelos outros marcadores, no Instituto de Cardiologia Aloysio de Castro-RJ. A relação dos trinta pacientes selecionados para o presente estudo foi

enviada para os dois centros laboratoriais, por via eletrônica, pelo responsável pela randomização. Para a seleção dos pacientes, foi utilizado o programa *Cytools Excel Add-in*.

No primeiro estudo, após a tomada de decisão quanto à indicação de cirurgia cardíaca como tratamento, 137 pacientes foram selecionados e avaliados. Desses pacientes, 75 foram incluídos com base nos seguintes critérios de inclusão estabelecidos: apresentar função ventricular normal ou disfunção leve no estudo ecocardiográfico prévio; ser de tratamento puramente cirúrgico; e aceitar participar da pesquisa. Desses 75 pacientes, três não foram operados por fatores pessoais; dois operaram em outra instituição; seis descontinuaram a medicação; e quatro necessitaram de reoperação por sangramento, sendo que três evoluíram para óbito. Portanto, sessenta pacientes efetivamente concluíram o protocolo.

Todos os pacientes do estudo atendiam aos critérios de inclusão.

4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos os pacientes que:

- (1) Após tomar conhecimento dos objetivos e métodos da pesquisa, demonstraram interesse em dela participar voluntariamente, assinando o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo1).
- (2) Foram diagnosticados em sua enfermidade como de tratamento iminentemente cirúrgico, tendo sido afastadas as possibilidades de estabilização da terapêutica otimizada, ou apresentaram lesões de indiscutível benefício cirúrgico.
- (3) Apresentaram disfunção ventricular no máximo de grau leve, avaliada por ecocardiograma transtorácico, utilizando o índice de contração segmentar (ICS) pela avaliação dos 17 segmentos da Sociedade Norte Americana de Ecocardiografia (Cerqueira et al. 2002). Os pacientes podiam apresentar um número máximo de quatro segmentos alterados, estando estes hipocinéticos,

acinéticos ou discinéticos, porém não ultrapassando ICS superior a 1,60, que é o limite superior para comprometimento ventricular leve.

4.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Os critérios abaixo relacionados foram considerados na seleção da amostra do primeiro estudo (cf. Martins 2009; Martins et al. 2011), sendo excluídos os pacientes que apresentaram condições que comprometessem a avaliação ecocardiográfica, dificultando o estadiamento funcional do ventrículo, assim como as seguintes intercorrências no pré e pós-operatório.

- (1) Infarto agudo pré-operatório
- (2) Doenças orovalvares associadas
- (3) Doença vascular associada que necessitasse cirurgia concomitante
- (4) Arritmias crônicas e/ou complexas
- (5) Alteração da contração segmentar totalizando mais de quatro segmentos com ICS superior a 1,6 na avaliação do escore de pontuação ecocardiográfica, o que traduz comprometimento moderado e/ou grave da função ventricular
- (6) Intolerância à trimetazidina
- (7) Complicações orgânicas no pós-operatório imediato, como sangramento cirúrgico; quadros infecciosos; tamponamento; AVC; intercorrências abdominais de tratamento cirúrgico
- (8) Discordância do paciente com o texto expresso no termo de consentimento livre e esclarecido de participação no estudo e, conseqüentemente, sua clara recusa em assiná-lo

4.5 MÉTODO

O presente estudo obteve a aprovação de Comissão de Ética em Pesquisa do IECAC-RJ, local onde os exames laboratoriais e os demais exames foram coletados (Anexo 2).

Os pacientes-voluntários foram selecionados entre os regularmente atendidos no setor de ambulatório do pré-operatório de cirurgia cardíaca da Instituição, supervisionado pela clínica de doença coronariana e pela clínica de cirurgia cardíaca. Após a seleção, informações adicionais sobre a pesquisa foram fornecidas para dar início aos critérios de inclusão e exclusão no momento da primeira avaliação clínica.

Todos os pacientes foram orientados a manter a medicação habitual, sendo o ácido acetil salicílico, o clopidogrel e a ticlopidina descontinuados com antecedência de no mínimo sete dias, em relação ao ato cirúrgico. Os pacientes foram instruídos a comparecer à Instituição do estudo para realização dos exames pré-operatórios e do ecocardiograma, método este utilizado inicialmente como critério de exclusão.

Todos os pacientes-voluntários foram informados dos possíveis, mas raros, efeitos adversos do medicamento da pesquisa (trimetazidina).

Após a leitura do texto do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, seguida de esclarecimentos sobre eventuais dúvidas ainda existentes, todos os voluntários assinaram sua aceitação.

Os equipamentos utilizados para análise das interleucinas e complementos estavam instalados na sede do DASA. A Pcr-u e o leucograma foram realizados em equipamentos localizados no Laboratório Diagnóstico das Américas (Brownstein), sediados no IECAC.

O cegamento e a randomização foram quebrados pelo orientador e informados ao pesquisador somente após a conclusão da análise estatística.

4.6 PROTOCOLO

TÉCNICA CIRÚRGICA

Em todos os casos, a técnica cirúrgica envolveu esternotomia mediana transesternal, dissecação da artéria torácica interna, retirada da veia safena interna, pericardiotomia longitudinal, introdução das cânulas na aorta e cânula única para cava, nessa sequência. As anastomoses dos enxertos de veia safena foram realizadas por duas técnicas. A primeira, com anastomose distal com pinçamento oclusivo (tangencial) da aorta e parada cardíaca em anóxia, realizando as distais e, em seguida, ainda em CEC, com pinçamento tangencial da aorta e anastomose proximal. A segunda, com pinçamento oclusivo da aorta para as anastomoses distais e proximais (Anexo 3).

CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

A circulação extracorpórea foi realizada com hipotermia central moderada (32-35°C) e a proteção miocárdica instituída através da cardioplegia sanguínea hipotérmica (4°C). A composição da solução cardioplégica era de 4:1:1 (40ml Kcl 10% + 10 ml bicarbonato de sódio + 10ml Su Mg 10%), diluída em 440ml de soro glicosado a 5%, infundido em paralelo com sangue. A solução foi infundida na raiz da aorta ou diretamente no seio coronariano (Anexo 3).

ANESTESIA

A anestesia realizada em todos os pacientes foi geral balanceada, veno-inalatória em circuito circular fechado, com absorvedor de CO₂ (Cal-sodada) e ventilação mecânica. Como agente inalatório, foi utilizado o isoflurane com oxigênio a 50%, misturado com óxido nitroso. Das drogas venosas, foram utilizados os hipnóticos etomidato e midazolam; como opioide, o fentanil; e como relaxante muscular, o brometo de pancurônio.

POSOLOGIA DA TRIMETAZIDINA

Foi fornecida a dose de 60mg da medicação/placebo dividida em três tomadas diárias, efetuada com doze a quinze dias antes do ato cirúrgico até cinco a oito dias de pós-operatório (Anexo 4).

O protocolo da pesquisa atendeu ao delineamento do estudo. A ordem aleatória da administração dos comprimidos, contendo placebo ou 20mg de trimetazidina foi estabelecido por farmacêutico e pesquisador INPI, responsável técnico pela Farmacopa Ltda e Doutor em Farmacologia pela UFRJ, que, através do programa *cytools Excel add-in*, realizou a randomização permutada em blocos, visando a uma distribuição idêntica do número de amostras em cada um dos dois grupos do estudo inicial.

VARIÁVEIS INFLAMATÓRIAS ANALISADAS

Para determinar os efeitos inflamatórios da CRVM, foram dosados os seguintes marcadores: interleucinas 6, 8 e TNF- α , complementos C3 e C5, PCR-u e leucócitos totais, neutrófilos e monócitos.

Na central do DASA, concentrou-se o armazenamento das sorotecas para as medidas de interleucinas (IL6, IL8 e TNF- α), sendo mantidas as amostras a -70^o, em duas sorotecas de tubos de eppendorf com 5ml, coletadas simultaneamente nos intervalos do protocolo da pesquisa: no pré-operatório sem droga, 5 minutos após o desclampamento aórtico no centro cirúrgico direto do átrio direito e com 12 e 24 horas após a cirurgia, em cateter profundo.

No laboratório central do Brownstein, foram realizadas as análises das amostras para as medidas dos complementos C3 e C5, após armazenamento em sorotecas de tubos de eppendorf com 5ml, coletadas nos intervalos do protocolo da pesquisa: no pré-operatório sem droga; 5 minutos após o desclampamento aórtico diretamente do átrio direito; e com 12 e 24 horas após a cirurgia em cateter profundo. As sorotecas foram armazenadas no laboratório Brownstein do IECAC e as amostras transportadas em compartimento refrigerado a 4°C.

No laboratório Brownstein do IECAC, foram analisadas as amostras para proteína C ultrasensível nos seguintes intervalos: sem droga no pré-operatório e com 48 horas que se seguiram ao ato cirúrgico. Nesse laboratório foram analisadas também as amostras para leucócitos totais, neutrófilos e monócitos nos seguintes intervalos do protocolo da pesquisa: sem droga no pré-operatório; 5 minutos após o desclameamento da aorta direto do átrio direito; e com 12, 24 e 48 horas que se seguiram ao ato cirúrgico em cateter profundo.

A PCR-ultrasensível foi mensurada pelo método de nefelometria pelo equipamento AU400 (Olympus) com limite de detecção técnica de 0,175mg/L, sendo considerados os valores para inflamação acima de 5mg/L. O complemento C3, pelo método de nefelometria, equipamento BN2 (Dade Behing) com valores de referência variando de 90 a 180 mg/dl e limite de detecção técnica de 0,5mg/dl. O complemento C5, pelo método de imunodifusão radial, equipamento AXI (Olympus), com valores de referência variando entre 7 a 18mg/dl e limite de detecção técnica de 0,1mg/dl.

As interleucinas foram mensuradas pela técnica de citometria de fluxo, equipamento BD modelo faxcanto II através do kit Flowcytomix Humano (BMS810FF) da Bender Medsystems. A interleucina 6 (IL6) apresenta limite de detecção técnica de 1,2pg/ml, porém a variação da intensidade da imunofluorescência se dá em valores inferiores a 27 pg/ml; a interleucina 8(IL8) apresenta limite de detecção técnica de 0,8 pg/ml, porém a variação da intensidade da imunofluorescência se dá em valores inferiores a 14pg/ml; e o TNf- α apresenta limite de detecção técnica de 3,2pg/ml, porém sua variação na imunofluorescência se dá em valores inferiores a 27pg/ml. Essas amostras foram armazenadas a -20°C no laboratório do IECAC e posteriormente a -70°C na central de imunologia do DASA.

Os leucócitos totais, neutrófilos e monócitos foram analisados pelo equipamento ABX Pentra 60 (Horiba) por três técnicas: citoquímica; impedância e absorção fotométrica. As variações de leucócito foram de 0-120x 10³/mm³, com detecção de 0,3mm³ (7,5%). Os neutrófilos variaram de 49% a 70% com detecção inferior a 3% e os monócitos variaram de 2% a 12% com detecção inferior a 10%. As

análises foram conferidas através de leitura de lâmina.

As amostras de sangue utilizadas foram obtidas através de coleta atrial direta no desclampamento aórtico e posteriormente em cateter posicionado no átrio direito. Todas as amostras foram coletadas sob técnica de aspiração em seringa de 20ml, após desprezar 10ml coletados previamente para limpeza do cateter, sendo depositadas em tubo específico para cada tipo de aferição dos marcadores.

Após centrifugação do sangue em 12000rpm durante quinze minutos, o plasma foi coletado por pipeta automática e condicionado em tubos de eppendorff de 5ml (Anexo 6).

VARIÁVEIS CIRÚRGICAS ANALISADAS

Foram avaliados: o número de pontes; os tempos de CEC e de clampeamento aórtico; e o volume de solução cardioplégica.

TERAPIA DE SUPORTE

A necessidade de utilização de hemoderivados e aminas vasoativas no pós-operatório foi incluída no protocolo para verificar possíveis interferências. O tempo de permanência na unidade pós-operatória foi tabulado com o objetivo de analisar se complicações clínicas poderiam interferir na média do tempo de permanência de cada grupo isoladamente.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística para comparação entre os grupos tratados com trimetazidina e o placebo foi realizada pelos seguintes métodos:

Para comparação de variáveis numéricas entre dois grupos, foi utilizado o teste *t* de Student para amostras independentes, ou o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Para variáveis categóricas, foi utilizado o teste de χ^2 ou exato de Fisher e,

para a análise do comportamento das variáveis ao longo do tempo (quatro ou cinco momentos), separadamente por grupo de tratamento, a Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas.

O teste de comparações múltiplas de Bonferroni (ajustado para medidas repetidas) foi aplicado para identificar quais os momentos que diferiam significativamente entre si. Para verificar se o comportamento ao longo do tempo era diferenciado entre os grupos, foi realizada a ANOVA para medidas repetidas com um fator.

A variação entre dois momentos da PCR foi analisada pelo teste dos postos sinalizados de Wilcoxon e a correspondente variação (delta) foi comparada entre os grupos pelo teste de Mann-Whitney.

Todos os valores do momento basal (pré-operatório) observados para IL6 e IL8 inferiores a 27pg/ml e 14pg/ml, respectivamente, foram classificados como valores nulos pelo Kit Flowcitomix. Sendo assim, foi proposto gerar valores aleatórios dentro desses limites e diferentes de zero através do programa EPI-INFO, visando ao processamento da análise estatística longitudinal, incluindo o momento basal dessas medidas. Foram aplicados testes não paramétricos, pois algumas variáveis não apresentaram distribuição normal (distribuição Gaussiana), devido à dispersão dos dados ou falta de simetria da distribuição.

O critério de determinação de significância adotado foi o nível de 5%. A análise estatística foi processada pelo *software* SAS 6.04 (SAS Institute, Inc., Cary, NC).

CAPÍTULO 5. RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

A Tabela 5.1 apresenta o perfil geral da amostra dos trinta pacientes que foram selecionados e concluíram o ensaio clínico, comparando os grupos placebo (Plac) e o tratado com trimetazidina (Tmz). Observe-se, especialmente, a homogeneidade dos dois grupos, no que diz respeito a variáveis clínicas que poderiam causar complicações no pós-operatório e/ou, eventualmente, dificultar a análise dos resultados.

Tabela 5.1 - Perfil geral da amostra segundo o grupo (Tmz e placebo)

Variável	Tmz		Plac		p valor
	n	%	n	%	
Sexo masculino	10	66,7	12	80,0	0,34
Idade anos (média ± DP)	59,0 ± 7,8		59,3 ± 5,8		0,91 ^a
Doença trivascular ^b	11	73,3	10	66,7	0,50
Diabetes Mellitus	2	13,3	2	13,3	0,70
HAS	9	60,0	10	66,7	0,50
IM prévio	3	20,0	5	33,3	0,34
Tabagismo ou ex-tabagista	7	46,7	10	66,7	0,23

DP: Desvio Padrão.

HAS: Hipertensão Arterial; IM: Infarto do Miocárdio

^a Teste *t* de Student para amostras independentes

^b Comparação da doença trivascular em relação à bivascular.

A Tabela 5.2 apresenta a distribuição dos medicamentos utilizados nos pacientes dos dois grupos, mostrando a homogeneidade entre eles. A estatina foi descontinuada 72 horas antes da cirurgia, devido a seus possíveis efeitos sobre a cascata inflamatória.

Tabela 5.2 - Distribuição dos medicamentos utilizados nos pacientes segundo o grupo (Tmz e Placebo)

Medicação	Total		Tmz		Plac	
	n	%	n	%	n	%
Antagonista da angiotensina II (BRA)	2	6,7	1	6,7	1	6,7
Antiagregante plaquetário	30	100	15	100	15	100
Benzodiazepinas	4	13,3	2	13,3	2	13,3
Betabloqueador	24	80,0	12	80,0	12	80,0
Diurético tiazídico	6	20,0	3	20,0	3	20,0
Estatina	29	96,7	15	100	14	93,3
Hipoglicemiante oral	4	100	2	100	2	100
Inibidor da angiotensina (IECA)	15	50,0	8	53,3	7	46,7
Nitrato	30	100	15	100	15	100

A Tabela 5.3 mostra a frequência das variáveis qualitativas para a amostra geral, considerando-se o grupo sem alteração da função segmentar, índice 1 (SAS), e com alteração leve da função segmentar, índices 1.1 a 1.6 (CAS), segundo a análise de contração segmentar (ICS - 17 segmentos) da Escola Americana de Ecocardiografia. Observa-se, em particular, que os grupos sem e com alteração segmentar se distribuem uniformemente.

Tabela 5.3 - Distribuição dos pacientes segundo a análise ecocardiográfica pelo índice de contração segmentar nos grupos Tmz e Placebo

Variável	categoria	Tmz		Placebo		p valor
		N	%	n	%	
Subgrupo	SAS	6	40,0	6	40,0	1,0
	CAS	9	60,0	9	60,0	

As Tabelas 5.4 e 5.5 fornecem média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo das variáveis inflamatória basais e das variáveis cirúrgicas. A análise foi composta pelo teste *t* de Student para amostras independentes (idade, C3, C5, leucócito, neutrófilo, monócito IL6, IL8 e PCR) ou teste de Mann-Whitney (tempo de anoxia,

tempo de CEC, volume cardioplegia, número de pontes, horas de CTI).

A Tabela 5.4 mostra a análise das variáveis inflamatórias basais, comparando os níveis dos marcadores em estudo nos dois grupos, antes do início do tratamento (trimetazidina/placebo). Nesse primeiro momento, não foram observadas diferenças significativas entre os valores basais dos grupos.

Tabela 5.4 - Análise das variáveis inflamatórias basais segundo o grupo

Variável basal	Grupo	n	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	p valor ^a
C3 (mg/dl)	Tmz	15	88,5	14,4	89	66	116	0,33
	Plac	15	95,7	24,2	99	54	137	
C5 (mg/dl)	Tmz	15	17,0	3,2	17,80	9,70	21,90	0,76
	Plac	15	17,3	2,5	17,30	10,80	21,00	
PCR (mg/L)	Tmz	15	0,508	0,35	0,32	0,18	1,30	0,48
	Plac	15	0,410	0,28	0,31	0,17	1,20	
IL6 (pg/ml) *	Tmz	15	2,31	1,46	2,20	0,20	4,30	0,82
	Plac	15	2,41	1,15	2,30	0,30	4,00	
IL8 (pg/ml) *	Tmz	15	1,53	0,91	1,5	0,2	3,1	0,19
	Plac	15	2,01	1,10	2,2	0,2	4,1	
Leucócito (u/L)	Tmz	15	7220,0	1394,5	7300	4900	10600	0,37
	Plac	15	6738,4	1502,1	6400	4700	9500	
Neutrófilos (%)	Tmz	15	56,0	6,3	57	45	66	0,81
	Plac	15	56,7	9,1	60	43,7	70	
Neutrófilos (u/L)	Tmz	15	4010,0	653,6	4095	2745	5124	0,48
	Plac	15	3798,3	956,8	3623,2	2592	5696	
Monócitos (%)	Tmz	15	8,07	1,66	8	5,7	10,4	0,98
	Plac	15	8,09	3,54	8	2	14,8	
Monócitos (u/L)	Tmz	15	560,7	119,8	552	279	750	0,81
	Plac	15	543,6	260,1	540	128	1012	

DP: Desvio Padrão

^a teste *t* de Student para amostras independentes ou de Mann-Whitney

* valores aleatórios gerados pelo programa estatístico abaixo dos limites da leitura do Kit.

Tabela 5.5 - Análise das variáveis cirúrgicas segundo o grupo (Tmz e Placebo)

Variável	Grupo	n	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	<i>p valor</i>
Idade (anos)	Tmz	15	59,0	7,8	58	48	74	0,91
	Plac	15	59,3	5,8	58	46	67	
Tempo de anoxia	Tmz	15	66,3	23,2	58	37	120	0,22
	Plac	15	58,3	23,8	50	30	100	
Tempo de CEC	Tmz	15	82,7	24,2	80	43	130	0,56
	Plac	15	77,3	23,1	75	50	120	
Volume cardiopl	Tmz	15	170,7	45,3	160	50	250	0,52
	Plac	15	162,7	59,3	150	100	300	
No de pontes	Tmz	15	2,87	0,74	3,0	2	4	0,74
	Plac	15	2,93	0,59	3,0	2	4	
Horas no CTI	Tmz	15	72,8	7,1	72	60	96	0,25
	Plac	15	78,4	14,8	72	60	120	

DP: Desvio Padrão

5.2 ANÁLISE DAS VARIÁVEIS CIRÚRGICAS DAS AMOSTRAS "SELECIONADA" E "NÃO SELECIONADA"

Esta seção tem como objetivo a análise comparativa dos grupos Tmz e placebo na amostra selecionada para este estudo, retirada aleatoriamente de uma amostra maior de estudo anterior, como visto em detalhes na seção 4.2.

As tabelas 5.6 e 5.7 mostram média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo das variáveis clínicas/tratamento entre as amostras ("selecionada" e "não selecionada"), e o correspondente nível descritivo (*p valor*) do teste estatístico, no grupo com droga Tmz e no grupo placebo respectivamente.

A análise foi composta pelo teste *t* de Student para amostras independentes (idade) ou teste de Mann-Whitney (tempo de anóxia, tempo de CEC, volume de cardioplegia, número de pontes e horas de CTI).

A Tabela 5.6. mostra a análise das variáveis clínicas e cirúrgicas da amostra de pacientes tratados com Tmz segundo o grupo selecionado e não selecionado para este estudo. Observa-se nesta análise que não houve variação significativa entre os grupos.

Tabela 5.6- Análise das variáveis clínicas e cirúrgicas segundo a amostra de pacientes tratados com Tmz nos grupos "selecionado" e "não selecionado"

Variável	selecionado	n	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	<i>p valor</i>
Idade (anos)	sim	15	59,0	7,8	58	48	74	0,59
	não	15	60,6	8,6	61	47	80	
Tempo de Anoxia	sim	15	66,3	23,2	58	37	120	0,78
	não	15	65,5	19,0	63	34	100	
Tempo de CEC	sim	15	82,7	24,2	80	43	130	0,33
	não	15	74,5	19,5	75	40	110	
Volume cardiopl	sim	15	170,7	45,3	160	50	250	0,61
	não	15	165,3	54,0	150	100	250	
No de pontes	sim	15	2,87	0,74	3,0	2	4	0,74
	não	15	2,93	0,59	3,0	2	4	
Horas no CTI	sim	15	72,8	7,1	72	60	96	0,17
	não	15	76,8	9,9	72	72	96	

DP: Desvio Padrão

A Tabela 5.7 mostra a análise das variáveis clínicas e cirúrgicas da amostra de pacientes tratados com placebo segundo o grupo selecionado e não selecionado para este estudo. Observa-se nesta análise que não houve variação significativa entre os grupos.

Tabela 5.7 - Análise das variáveis clínicas e de tratamento segundo a amostra de pacientes tratados com placebo nos grupos "selecionado" e "não selecionado"

Variável	selecionado	n	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	<i>p valor</i>
Idade (anos)	sim	15	59,3	5,8	58	46	67	0,11
	não	15	63,1	7,2	66	51	72	
Tempo de Anoxia	sim	15	58,3	23,8	50	30	100	0,19
	não	15	67,8	28,2	60	42	156	
Tempo de CEC	sim	15	77,3	23,1	75	50	120	0,37
	não	15	85,9	30,9	80	45	179	
Volume cardiopl	sim	15	162,7	59,3	150	100	300	0,20
	não	15	187,3	53,4	170	120	300	
No de pontes	sim	15	2,93	0,59	3,0	2	4	0,40
	não	15	3,13	0,74	3,0	2	4	
Horas no CTI	sim	15	78,4	14,8	72	60	120	0,58
	não	15	75,2	11,5	72	60	96	

DP: Desvio Padrão

5.3 ANÁLISE LONGITUDINAL DAS VARIÁVEIS INFLAMATÓRIAS AO LONGO DO TRATAMENTO

As Tabelas de 5.8 a 5.15 fornecem média, desvio padrão e mediana do C3 (mg/dl), C5 (mg/dl), IL6 (pg/ml), IL8 (pg/ml), leucócito (u/L), neutrófilo (u/L), monócito (u/L) e PCR (mg/L), respectivamente, ao longo do tratamento para cada grupo (Tmz e Placebo) e os correspondentes níveis descritivos (*p valor*) dos testes estatísticos.

Inicialmente, a análise estatística foi composta pela ANOVA para medidas repetidas para verificar se existia variação ao longo do tempo e pelo teste de comparações múltiplas de Bonferroni, ajustado para quatro (ou cinco) momentos, ao nível de 5%.

Posteriormente, a ANOVA para medidas repetidas com um fator foi aplicada para analisar a influência da interação grupo e tempo, a fim de verificar se a evolução (momento delta) das variáveis inflamatórias era estatisticamente diferente entre os grupos estudados.

A análise da PCR, devido à avaliação em apenas dois momentos, foi composta pelo teste dos postos de Wilcoxon, que verifica se existe variação significativa entre os momentos basal e 48 horas, e pelo teste de Mann-Whitney, que verifica se existe diferença significativa na variação (momento delta) entre os grupos.

Os valores basais observados para IL6 e IL8 foram todos inferiores a 27pg/ml e 14 pg/ml, respectivamente, classificados como valores nulos pelo *Kit Flowcytomix*. Sendo assim, foi proposto gerar valores aleatórios dentro desses limites e diferentes de zero através do programa EPI-INFO, visando o processamento da análise estatística longitudinal incluindo o momento basal dessas medidas.

Além disso, os valores observados para o TNF α foram todos nulos, ou seja, inferiores ao limite de referência (27pg/ml) nos quatro momentos estudados (basal, 5 min, 12 horas e 24 horas). Sendo assim, não foi possível processar o método estatístico para essa medida.

Tabela 5.8 - Análise longitudinal do C3 (mg/dl) segundo o grupo de tratamento

Grupo	C3 (mg/dl)	Média	DP	Mediana	p valor ^a	diferenças significativas ^b	p valor ^c
Tmz	basal	88,5	14,4	89	0,0001	basal \neq 5min	0,58
	5 min	199,4	58,1	200		5min \neq 12hs	
	12 horas	120,0	20,9	119		basal \neq 12hs	
	24 horas	118,1	13,6	117		5min \neq 24hs	
Plac	basal	95,7	24,2	99	0,0001	basal \neq 24hs	0,58
	5 min	211,3	47,2	202		basal \neq 5min	
	12 horas	114,0	25,1	119		5min \neq 12hs	
	24 horas	124,7	31,8	121		basal \neq 24hs	

DP: Desvio Padrão

^a ANOVA para medidas repetidas no interior de cada grupo (efeito do tempo).

^b teste de comparações múltiplas de Bonferroni ajustado para 4 momentos, ao nível de 5%.

^c ANOVA para medidas repetidas entre os grupos (efeito da interação: grupo*tempo).

Pela Análise de Variância para medidas repetidas, observou-se variação significativa no C3 ao longo do tempo, tanto no grupo Tmz ($p = 0,0001$), quanto no grupo Placebo ($p=0,0001$). Segundo o teste de Bonferroni, indentificou-se que os

momentos que diferem significativamente entre si expressam uma curva de “pico” em 5 min e depois uma estabilidade entre 12 horas e 24 horas, conforme ilustra o Gráfico 5.1. Observou-se que não existe diferença significativa na variação do C3 entre os dois grupos ($p=0,58$), ou seja, evoluem de forma semelhante ao longo do tratamento.

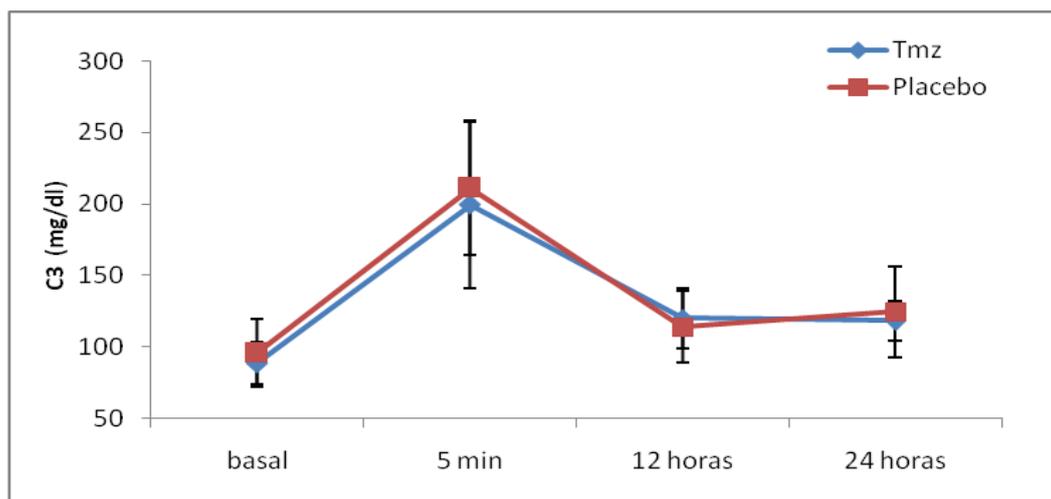


Gráfico 5.1 - C3 ao longo do tempo segundo o grupo de tratamento

Tabela 5.9 - Análise longitudinal do C5 (mg/dl) segundo o grupo de tratamento

Grupo	C5 (mg/dl)	Média	DP	Mediana	p valor ^a	diferenças significativas ^b	p valor ^c
Tmz	basal	17,0	3,2	17,8	0,014	5min ≠ 24hs	0,23
	5 min	21,4	7,2	18,2			
	12 horas	18,1	3,4	18,7			
	24 horas	15,8	4,8	15,3			
Plac	basal	17,3	2,5	17,3	0,001	basal ≠ 5min 5min ≠ 12hs	0,23
	5 min	23,0	3,9	22,9			
	12 horas	17,7	6,4	15,4			
	24 horas	19,7	5,7	18,1			

DP: Desvio Padrão

^a ANOVA para medidas repetidas no interior de cada grupo (efeito do tempo).

^b teste de comparações múltiplas de Bonferroni ajustado para 4 momentos, ao nível de 5%.

^c ANOVA para medidas repetidas entre os grupos (efeito da interação: grupo*tempo).

Pela Análise de Variância para medidas repetidas, observou-se que existe variação significativa no C5 ao longo do tempo, tanto no grupo Tmz ($p = 0,014$), quanto no

grupo Placebo ($p = 0,001$). Identificou-se, segundo o teste de Bonferroni, que os momentos que diferem significativamente entre si expressam uma curva de “pico” em 5 min e uma estabilidade entre 12 e 24 horas no grupo Placebo e uma queda em 24 horas, em relação aos 5 min no grupo Tmz, conforme ilustra o Gráfico 5.2. Observou-se que não existe diferença significativa na variação do C5 entre os dois grupos ($p = 0,23$), ou seja, os grupos evoluem de forma semelhante ao longo do tratamento.

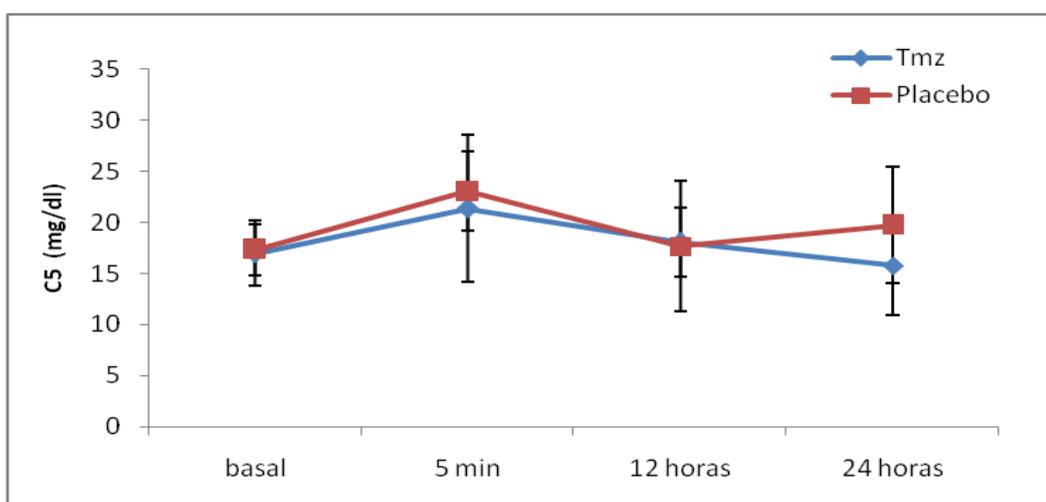


Gráfico 5.2 - C5 ao longo do tempo segundo o grupo de tratamento

Tabela 5.10 - Análise longitudinal do IL6 (pg/ml) segundo o grupo de tratamento

Grupo	IL6 (pg/ml)	Média	DP	Mediana	p valor ^a	diferenças significativas ^b	p valor ^c
Tmz	basal	2,3	1,5	2,2	0,0001	basal ≠ 5min	0,012
	5 min	29,2	15,3	28,0		basal ≠ 12hs	
	12 horas	88,5	34,5	87,4		basal ≠ 24hs	
	24 horas	42,4	19,4	43,7		12hs ≠ 24hs	
Plac	basal	2,4	1,2	2,3	0,0001	basal ≠ 5min	0,012
	5 min	32,2	18,3	32,1		basal ≠ 12hs	
	12 horas	119,8	52,0	110,9		basal ≠ 24hs	
	24 horas	71,8	38,1	84,0		12hs ≠ 24hs	

DP: Desvio Padrão

^a ANOVA para medidas repetidas no interior de cada grupo (efeito do tempo).

^b teste de comparações múltiplas de Bonferroni ajustado para 4 momentos, ao nível de 5%.

^c ANOVA para medidas repetidas entre os grupos (efeito da interação: grupo*tempo).

Pela Análise de Variância para medidas repetidas, observou-se que existe variação significativa no IL6 ao longo do tempo, tanto no grupo Tmz ($p = 0,0001$), quanto no grupo Placebo ($p = 0,0001$). Identificou-se, segundo o teste de Bonferroni, que os momentos que diferem significativamente entre si expressam uma curva de “pico” em 12 horas, sem voltar ao nível basal, conforme ilustra o Gráfico 5.3. Observou-se que existe diferença significativa na variação do IL6 entre os dois grupos ($p = 0,012$), ou seja, o grupo Tmz apresentou um aumento (delta) significativamente menor que o grupo Placebo, ou seja, os grupos evoluem de forma diferenciada ao longo do tratamento.

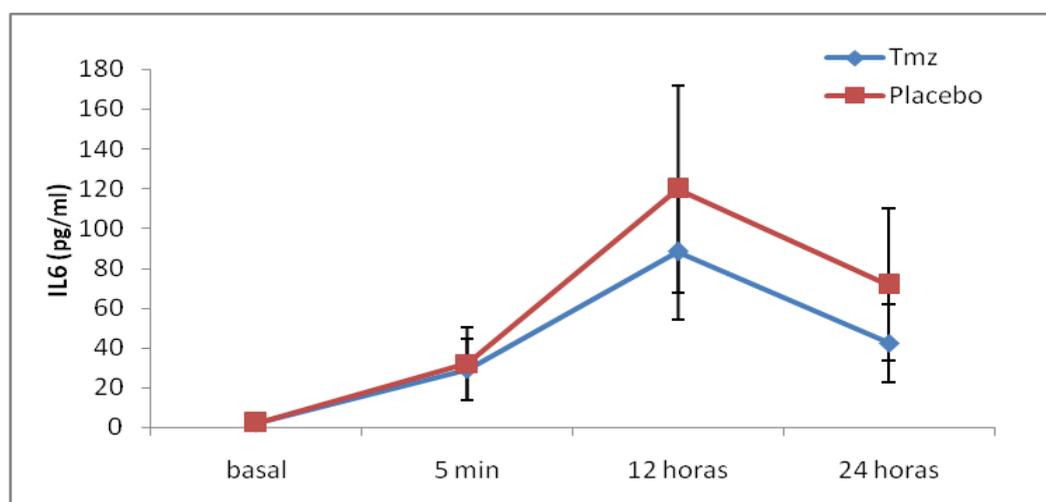


Gráfico 5.3 - IL6 ao longo do tempo segundo o grupo de tratamento

Tabela 5.11 - Análise longitudinal do IL8 (pg/ml) segundo o grupo de tratamento

Grupo	IL8 (pg/ml)	Média	DP	Mediana	p valor ^a	diferenças significativas ^b	p valor ^c
Tmz	basal	1,5	0,9	1,5	0,0001	basal ≠ 5min	0,94
	5 min	15,7	8,2	13,7		5min ≠ 12hs	
	12 horas	35,5	16,9	37,4		basal ≠ 12hs	
	24 horas	16,8	9,0	15,7		basal ≠ 24hs	
Plac	basal	2,0	1,1	2,2	0,0001	basal ≠ 5min	0,94
	5 min	18,7	14,0	12,6		5min ≠ 12hs	
	12 horas	38,5	21,9	34,8		basal ≠ 12hs	
	24 horas	18,6	12,3	14,8		basal ≠ 24hs	

DP: Desvio Padrão

^a ANOVA para medidas repetidas no interior de cada grupo (efeito do tempo).^b teste de comparações múltiplas de Bonferroni ajustado para 4 momentos, ao nível de 5%.^c ANOVA para medidas repetidas entre os grupos (efeito da interação: grupo*tempo).

Pela Análise de Variância para medidas repetidas, observou-se que existe variação significativa no IL8 ao longo do tempo, tanto no grupo Tmz ($p = 0,0001$), quanto no grupo Placebo ($p = 0,0001$). Identificou-se, segundo o teste de Bonferroni, que os momentos que diferem significativamente entre si expressam uma curva de “pico” em 12 horas, sem voltar ao nível basal, conforme ilustra o Gráfico 5.4. Observou-se que não existe diferença significativa na variação do IL8 entre os dois grupos ($p = 0,94$), ou seja, os grupos evoluem de forma semelhante ao longo do tratamento.

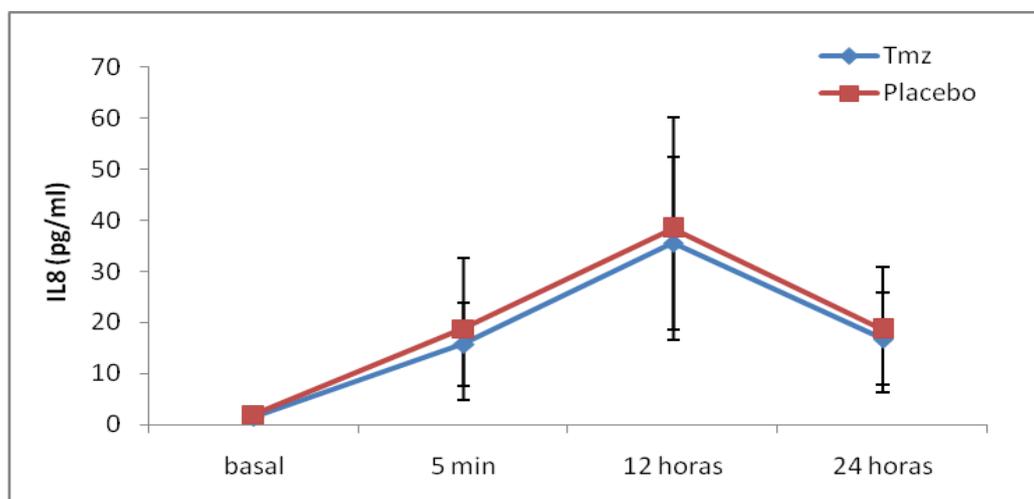


Gráfico 5.4. IL8 ao longo do tempo segundo o grupo de tratamento

Tabela 5.12 Análise longitudinal do leucócito (u/L) segundo o grupo de tratamento

Grupo	Leuco (u/L)	Média	DP	Mediana	<i>p</i> valor ^a	diferenças significativas ^b	<i>p</i> valor ^c
Tmz	basal	7220,0	1394,5	7300	0,0001	basal ≠ 5min	0,012
	5 min	13053,0	2497,7	12900		basal ≠ 12hs 5min ≠ 48hs	
	12 horas	12980,0	2965,3	14200		basal ≠ 24hs	
	24 horas	11370,0	3444,0	11250		basal ≠ 48hs 12hs ≠ 48hs	
	48 horas	9760,0	2618,3	9900			
Plac	basal	6738,4	1502,1	6400	0,0001	basal ≠ 5min 5min ≠ 24hs	0,012
	5 min	15729,0	3788,0	16100		basal ≠ 12hs 5min ≠ 48hs	
	12 horas	15149,0	3523,6	16300		basal ≠ 24hs 12hs ≠ 24hs	
	24 horas	12841,0	2943,1	12400		basal ≠ 48hs 12hs ≠ 48hs	
	48 horas	10691,0	2867,4	11200		24hs ≠ 48hs	

DP: Desvio Padrão

^a ANOVA para medidas repetidas no interior de cada grupo (efeito do tempo).^b teste de comparações múltiplas de Bonferroni ajustado para 5 momentos, ao nível de 5%.^c ANOVA para medidas repetidas entre os grupos (efeito da interação: grupo*tempo).

Pela Análise de Variância para medidas repetidas, observou-se que existe variação significativa no leucócito ao longo do tempo, tanto no grupo Tmz ($p = 0,0001$), quanto no grupo Placebo ($p = 0,0001$). Identificou-se, segundo o teste de Bonferroni, que os momentos que diferem significativamente entre si expressam uma curva de “platô” entre 5 min e 12 horas, sem voltar para o nível basal, conforme ilustra o Gráfico 5.5. Observou-se que existe diferença significativa na variação do leucócito entre os dois grupos ($p=0,012$), ou seja, o grupo Tmz apresentou um aumento (delta) significativamente menor que o grupo Placebo (os grupos evoluem de forma diferenciadas ao longo do tratamento).

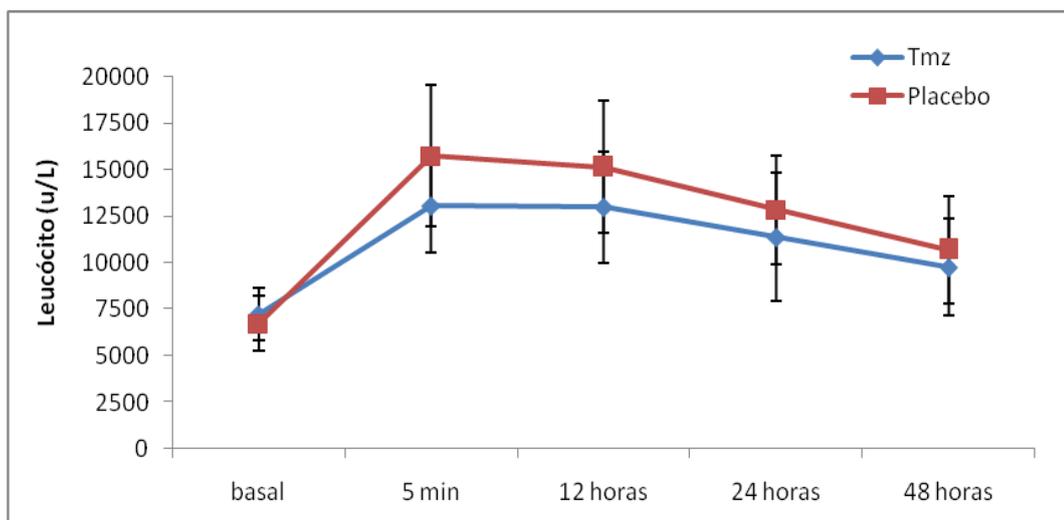


Gráfico 5.5 Leucócito ao longo do tempo segundo o grupo de tratamento

Tabela 5.13 - Análise longitudinal do neutrófilo (u/L) segundo o grupo de tratamento

Grupo	Neutro (u/L)	Média	DP	Mediana	p valor ^a	diferenças significativas ^b	p valor ^c
Tmz	basal	4010,0	653,6	4095	0,0001	basal ≠ 5min	0,005
	5 min	10668,0	2200,5	10500		basal ≠ 12hs	
	12 horas	9879,0	3606,0	10584		basal ≠ 24hs	
	24 horas	8519,9	3052,7	8663		basal ≠ 48hs	
	48 horas	7211,3	2294,3	7425		12hs ≠ 48hs	
Plac	basal	3798,3	956,8	3623	0,0001	basal ≠ 5min	0,005
	5 min	12682,0	2984,0	12870		basal ≠ 12hs	
	12 horas	12841,0	3260,7	14186		basal ≠ 24hs	
	24 horas	9790,0	2723,5	9440		basal ≠ 48hs	
	48 horas	7223,6	2471,3	6844		12hs ≠ 24hs	
						24hs ≠ 48hs	

DP: Desvio Padrão

^a ANOVA para medidas repetidas no interior de cada grupo (efeito do tempo).^b teste de comparações múltiplas de Bonferroni ajustado para 5 momentos, ao nível de 5%.^c ANOVA para medidas repetidas entre os grupos (efeito da interação: grupo*tempo).

Pela Análise de Variância para medidas repetidas, observou-se que existe variação significativa no neutrófilo (u/L) ao longo do tempo, tanto no grupo Tmz ($p = 0,0001$), quanto no grupo Placebo ($p = 0,0001$). Identificou-se, segundo o teste de Bonferroni, que os momentos que diferem significativamente entre si expressam uma curva de “platô” entre 5 min e 12 horas sem voltar para o nível basal, conforme ilustra o

Gráfico 5.6. Observou-se que existe diferença significativa na variação do neutrófilo (u/L) entre os dois grupos ($p = 0,005$), ou seja, o grupo Tmz apresentou um aumento (delta) significativamente menor que o grupo Placebo, ou seja, os grupos evoluem de forma diferenciadas ao longo do tratamento.

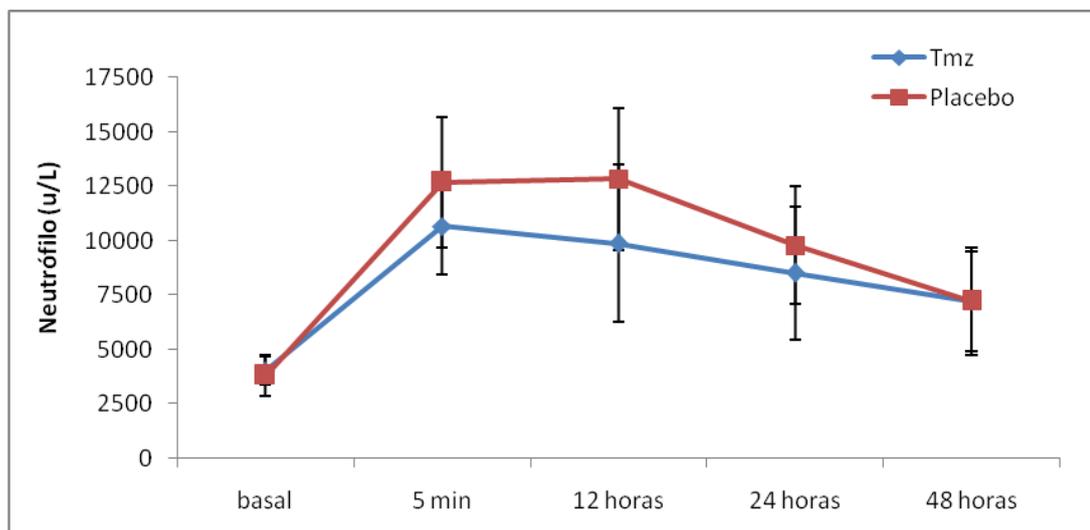


Gráfico 5.6 - Neutrófilo (u/L) ao longo do tempo segundo o grupo de tratamento

Tabela 5.14 - Análise longitudinal do monócito (u/L) segundo o grupo de tratamento

Grupo	Mono (u/L)	Média	DP	Mediana	P valor ^a	diferenças significativas ^b	p valor ^c
Tmz	basal	560,7	119,8	552	0,003	basal ≠ 5min	0,25
	5 min	885,9	408,2	894		basal ≠ 12hs	
	12 horas	915,9	296,1	930		basal ≠ 24hs	
	24 horas	870,9	317,4	900			
	48 horas	702,5	333,2	672			
Plac	basal	543,6	260,1	540	0,0001	basal ≠ 5min	0,25
	5 min	1166,7	397,7	1155		basal ≠ 12hs	
	12 horas	1050,7	420,8	1106		basal ≠ 24hs	
	24 horas	899,6	387,5	780		basal ≠ 48hs	
	48 horas	917,4	325,4	842			

DP: Desvio Padrão

^a ANOVA para medidas repetidas no interior de cada grupo (efeito do tempo).

^b teste de comparações múltiplas de Bonferroni ajustado para 5 momentos, ao nível de 5%.

^c ANOVA para medidas repetidas entre os grupos (efeito da interação: grupo*tempo).

Pela Análise de Variância para medidas repetidas, observou-se que existe variação significativa no monócito (u/L) ao longo do tempo, tanto no grupo Tmz ($p = 0,003$), quanto no grupo G7 ($p = 0,0001$). Identificou-se, segundo o teste de Bonferroni, que os momentos que diferem significativamente entre si expressam um aumento após 5 min de tratamento em relação ao basal, conforme ilustra o Gráfico 5.7. Observou-se que não existe diferença significativa na variação do monócito (u/L) entre os dois grupos ($p = 0,25$), ou seja, os grupos evoluem de forma semelhante ao longo do tratamento.

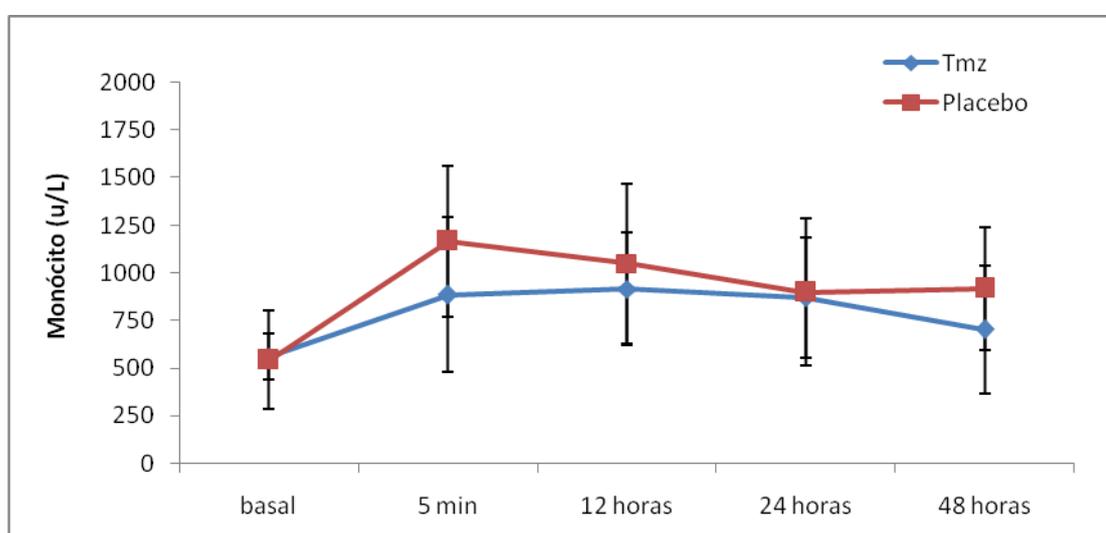


Gráfico 5.7 - Monócito (u/L) ao longo do tempo segundo o grupo de tratamento

Tabela 5.15 - Análise longitudinal da PCR (mg/L) segundo o grupo de tratamento

Grupo	PCR (mg/L)	Média	DP	Mediana	p valor ^a	p valor ^b
Tmz	basal	0,51	0,35	0,32	0,0001	0,31
	48 horas	15,1	3,3	15,2		
Plac	basal	0,41	0,28	0,31	0,0001	0,31
	48 horas	16,2	3,1	16,9		

DP: Desvio Padrão

^a teste dos postos sinalizados de Wilcoxon.

^b teste de Mann-Whitney para o delta (48hs - basal).

Pelo teste dos postos sinalizados de Wilcoxon, observou-se que existe variação

significativa no PCR do basal para 48h, tanto no grupo Tmz ($p = 0,0001$), quanto no grupo Placebo ($p = 0,0001$), conforme ilustra o Gráfico 5.8. Observou-se, segundo o teste de Mann-Whitney, que não existe diferença significativa na variação (delta) do PCR entre os dois grupos ($p = 0,31$), ou seja, os grupos evoluem de forma semelhante ao longo do tratamento.

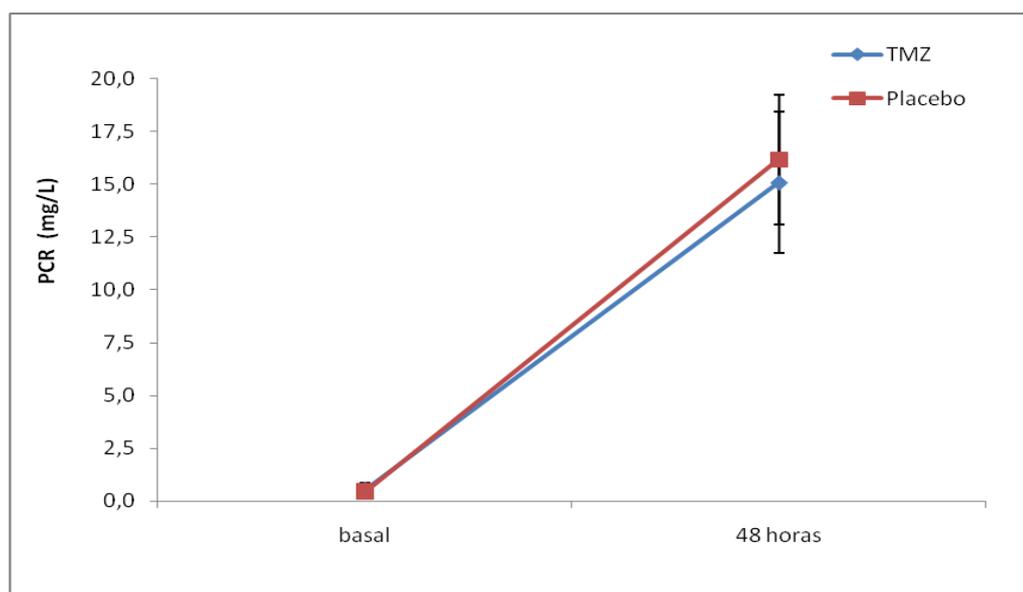


Gráfico 5.8 - PCR ao longo do tempo segundo o grupo de tratamento

CAPÍTULO 6. DISCUSSÃO

6.1 DOS PACIENTES E DOS MÉTODOS

Um estudo inicial, conduzido entre 2007 e 2008, para avaliar a diferença nos marcadores sorológicos de injúria miocárdica (troponina-T e CpK-Mb), foi finalizado com sessenta pacientes, distribuídos em grupo tratado (com trimetazidina – Tmz) e grupo placebo (cf. Martins 2008; Martins et. al. 2011). Dessa amostra, foram selecionados aleatoriamente para este estudo 15 pacientes de cada grupo, para dosagem dos seguintes marcadores inflamatórios: IL6, IL8, TNF- α , C3, C5, leucócitos totais, neutrófilos, monócitos e PCR-us. Uma análise comparativa das variáveis cirúrgicas entre os pacientes selecionados para este estudo e aqueles que não foram selecionados mostrou que tanto o grupo Tmz como o grupo placebo eram significativamente semelhantes (Tabela 5.4).

O ecocardiograma transtorácico foi utilizado para analisar a função ventricular de modo a incluir no estudo somente aqueles pacientes com função ventricular normal ou com leve comprometimento (Cerqueira et al. 2002; Lang et al. 2006).

O protocolo do estudo teve como objetivo a análise laboratorial comparativa dos valores de interleucinas e complementos em quatro momentos (no pré-operatório; 5 minutos após o desclameamento da aorta; e 12 e 24 horas após a cirurgia). Os leucócitos totais, neutrófilos e monócitos foram ainda dosados 48 horas após a cirurgia e a PCR-us apenas em dois momentos (no pré-operatório e após 48 horas). Desse modo, foi possível analisar a ação da Tmz desde o pré operatório, sem droga/placebo, até as 48 horas do pós-cirúrgico, totalizando entre 14 e 17 dias de tratamento.

Foram, então, avaliados os momentos considerados de maior significado clínico, ou seja, o pré-operatório, quando esses marcadores não devem estar alterados, e cinco minutos após o desclameamento aórtico, que caracteriza o momento da perfusão do miocárdio pela recirculação dos radicais hiperóxidos (Pavelková et

al. 2006; Ascione et al. 2000).

Alguns investigadores utilizam, além dos marcadores analisados neste ensaio, outros que podem ter a mesma expressão frente aos resultados na resposta inflamatória, embora ainda não se tenha definido um padrão ou protocolo unificando os marcadores disponíveis ou já utilizados. Entretanto, as interleucinas, os complementos, algumas moléculas de adesão (L-selectina, P-selectina, VCAM-1, CD11b/CD18), PCR e leucócitos polimorfonucleares são utilizados com frequência, tanto para comparação entre cirurgias com CEC, como na análise dos diferentes tipos de cardioplegia e, ainda, em pesquisas com drogas para a redução da resposta inflamatória (Greilich et al. 2008; Serrano et al. 2010; Cappabianca et al. 2011).

Alguns critérios para identificar com precisão a gravidade da resposta inflamatória no transcurso e no pós-operatório de cirurgias cardiovasculares têm sido propostos, sendo diversos os modelos e os pontos de corte dos biomarcadores nos ensaios clínicos.

Kawamura et al. (1993) avaliaram onze pacientes submetidos à CRVM-CEC, a partir dos níveis de IL6, IL8, Tnf- α , da contagem de neutrófilos e de granulose elastase, no pré-operatório, antes de clampar a aorta, 60 minutos após clampeamento aórtico e 60, 120 e 180 minutos após o desclampeamento da aorta. Os autores verificaram uma queda com variações não significativas nos níveis do Tnf- α , 60 minutos após o clampeamento aórtico. As elevações observadas na IL6 e IL8 foram consideradas como resultado da isquemia, tendo sido sugerido que as citocinas participem da injúria de reperfusão através de sua liberação pelos neutrófilos ativados.

Ascione et al. (2000) avaliaram a resposta inflamatória em sessenta pacientes submetidos à CRVM, randomicamente distribuídos em dois grupos, com e sem CEC. Amostras de soro foram coletadas para estimar neutrófilo elastase, IL8, C3a, e C5a no pré-operatório e com 1, 4 12 e 24 horas após a cirurgia. Os leucócitos totais, neutrófilos e monócitos foram analisados no pré-operatório, e

com 1, 12, 36 e 60 horas. Os resultados mostraram que os valores da IL8 foram maiores no grupo submetido à CEC; que os complementos se elevaram sem diferenças entre os grupos; e que os leucócitos, neutrófilos e monócitos foram significativamente mais elevados nos pacientes submetidos à CEC.

Serrano et al. (2010) analisaram a resposta inflamatória em oitenta pacientes divididos em dois grupos, com e sem CEC. Amostras de sangue foram coletadas antes da cirurgia, com 24 horas, e cinco dias do ato cirúrgico. O protocolo analisou CpK-Mb, troponina I, IL6, IL8, P-selectina, ICAM-1, leucócitos totais e PCR. Os autores observaram que os pacientes submetidos à cirurgia sem CEC tiveram seus níveis de troponina e CpK-Mb reduzidos, sugerindo uma melhor proteção do miocárdio.

Até onde se sabe, não existem padrões pré-determinados de biomarcadores na resposta inflamatória em CRVM-CEC. Estudos com diversos protocolos analisando diferentes fatores que envolvem a fisiopatologia da resposta inflamatória carecem de achados científicos que conduzam a uma conduta terapêutica preventiva efetiva. Substâncias analisadas em ensaios clínicos não apresentaram resultados que mostrassem redução de complicações inflamatórias em CRVM-CEC (Larmann & Theilmeier, 2004; Warren et al. 2009a,b; Chen et al. 2010).

6.2 DOS RESULTADOS

Na população estudada, com pacientes coronariopatas com lesões bi e trivasculares com função ventricular normal ou levemente comprometida, buscou-se evidências que corroborassem achados da literatura quanto à utilização da Tmz como pré-tratamento na CRVM-CEC, com o objetivo de atenuar a resposta inflamatória.

Na análise das variáveis numéricas ecocardiográficas, realizadas pelo índice de contração segmentar (ICS), e inflamatórias basais, referentes ao pré-operatório, das variáveis numéricas relacionadas ao ato cirúrgico, e das categóricas segundo

os grupos, não foram observadas alterações significativas entre os dois grupos de tratamento, o Tmz e o placebo, mostrando que os mesmos eram bem homogêneos.

Na análise descritiva das medicações utilizadas como tratamento padrão, no pré-operatório, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. A estatina foi suspensa 72 horas antes da cirurgia por seu possível efeito antiinflamatório (Tabela 5.2).

Cabe ressaltar que no pós-operatório desses grupos não ocorreram complicações clínicas e que os pacientes não necessitaram de suporte com aminas, transfusões ou qualquer outra terapia suplementar. A análise descritiva geral das variáveis clínicas e das variáveis inflamatórias basais não evidenciaram alterações significativas entre os grupos (Tabelas 5.1 e 5.4, respectivamente).

Esse fato chama atenção para alguns estudos que atribuem aos valores elevados dos marcadores inflamatórios no pré-operatório à complicações pós-operatórias. Biancari et al. (2003), analisando a PCR como preditor de eventos cardiovasculares em 764 pacientes submetidos à CRVM com CEC, durante o período de internação no pós-operatório de cirurgia cardíaca, verificaram que os pacientes que apresentaram níveis séricos de PCR $\geq 1.0\text{mg/dl}$ tiveram maior mortalidade global no pós-operatório, maior mortalidade cardiovascular e síndrome de baixo débito.

Balciunas et al. (2009), analisando também a PCR em pacientes submetidos à CRVM com CEC em protocolo prospectivo, verificaram que nos pacientes que apresentaram valores de PCR no pré-operatório igual ou superior a $3,3\text{mg/dl}$, os eventos cardiovasculares foram estatisticamente superiores.

Albert et al. (2003) analisaram valores de leucócitos no pré-operatório em 7.483 pacientes submetidos à CRVM-CEC, a fim de predizer a relação entre níveis basais elevados de leucócitos e ocorrência de acidente vascular encefálico (AVE). No estudo, o risco pré-operatório de AVE durante ou após a cirurgia,

relacionou-se com valores de leucócitos, medidos a partir de $9 \times 10^3/L$.

As alterações dos marcadores inflamatórios no pré-operatório de cirurgia cardíaca mostradas nesses estudos sugerem que valores compatíveis com a normalidade devem fazer parte da estratificação clínica dos pacientes. No presente estudo, os valores dos marcadores analisados encontravam-se dentro da normalidade nos dois grupos.

Na análise das variáveis referentes ao tratamento cirúrgico, descritas na Tabela 5.5, não foram verificadas diferenças significativas entre os grupos. Ao estender a análise, comparando o grupo Tmz selecionado neste estudo com o grupo Tmz que não foi selecionado (seção 2.11), verificou-se que as variáveis utilizadas não apresentaram diferenças estatisticamente significativas (Tabela 5.6). Oportunamente, foram comparados os grupos correspondentes tratados com placebo e incluídos neste ensaio com os que não foram incluídos frente às variáveis consideradas no tratamento cirúrgico, não se verificando também alterações estatisticamente significativas (Tabela 5.7).

No que tange às variáveis cirúrgicas, não foram encontrados na literatura ensaios randomizados, com grupos tratado e placebo, que examinassem a variação e a evolução dos parâmetros de avaliação que correspondem ao procedimento da CRVM-CEC (tempo de anóxia, tempo de CEC, volume de cardioplegia e número de pontes), tal como feito neste estudo.

Misoph & Babin-Ebell (1997) analisaram vinte pacientes submetidos à CRVM-CEC, com objetivo de identificar seu efeito sobre a produção e evolução das citocinas pró e anti-inflamatórias (IL2, IL4, IL6, IL8, IL 10 e tnf- α) coletadas no pré-operatório, no intra-operatório (início da CEC, 20, 40, 60 e 100 minutos) e no pós-operatório (saída de CEC, 4, 8, 12 e 24 horas). Os níveis de IL6 atingiram valores mais elevados em todos os tempos dosados do intra-operatório, sendo maior em 100 minutos de CEC. Entretanto, no pós operatório, embora os valores de IL6 também se mostrassem elevados, não foi possível estabelecer uma relação com os tempos de CEC.

Whitten et al. 1998, analisando a resposta inflamatória através dos níveis plasmáticos de IL6 em relação à duração da CEC e do clampeamento da aorta, sem a administração de hemoderivados, observaram uma relação direta entre a magnitude da produção de IL6 e a duração da CEC, porém a duração do clampeamento da aorta não apresentou esta relação.

Diegeler et al. (2000) analisaram a resposta inflamatória em três diferentes abordagens, CRVM-CEC, CRVM-CEC em incisão minimamente invasiva, e CRVM sem CEC, através de níveis séricos de C5a, C3d, IL6, IL8, IL10 e TNF- α , nos seguintes momentos: antes da cirurgia, durante e com 4, 24 e 48 horas, e 6 dias após a cirurgia. Os autores concluíram que existe uma resposta pró e anti-inflamatória inerente ao trauma cirúrgico sendo intensificada pela utilização da CEC.

Ao analisar as variáveis cirúrgicas entre os grupos Tmz e Placebo neste estudo, verificou-se que o tempo de CEC e o tempo de clampeamento da aorta foram semelhantes, não apresentando significância estatística, sendo esses tempos inferiores àqueles encontrados em ensaios publicados.

Em ensaio clínico, Bucerius et al. (2003) reconhecem o tempo de CEC como preditor independente de complicações pós-cirúrgicas. Nissinene et al. (2009), evidenciaram uma relação de complicações maiores, como morbidade pós-operatória e acidente vascular encefálico, com o tempo de CEC e o tempo de clampeamento da aorta.

Esses estudos sugerem que quanto maior o tempo de pinçamento aórtico e de CEC, pior serão os efeitos deletérios, nos quais deve-se incluir o momento da reperfusão. Isso também se relaciona com a síndrome de resposta inflamatória sistêmica, bem estabelecida, que pode ocorrer após a CRVM-CEC. No entanto, a correlação entre esses parâmetros e os resultados adversos não é simples. De fato, é bastante difícil discernir entre o impacto isolado negativo da isquemia do miocárdio na CEC e o risco inerente a cada paciente no pré-operatório, as dificuldades técnicas do cirurgião no intra-operatório, bem como do anestesista,

e, por último, e não menos importante, a qualidade dos cuidados pós-operatórios.

Shahzad et al. (2005), em artigo de revisão, comparam ensaios duplo-cego, controlados e randomizados e discutem o impacto de doze diferentes desfechos da CRVM com e sem CEC. Dentre eles, os autores analisam a resposta inflamatória sistêmica, cujas evidências foram consistentes em sugerir que a CRVM com CEC se associa a sequelas mais graves em relação à CRVM sem CEC.

Neste estudo, foram analisados os resultados da evolução dos complementos C3 e C5, a partir de valores basais sem interferência da Tmz (substância em análise), tendo como momento de partida os 5 minutos que se seguiram ao desclameamento da aorta, quando ocorre a reperfusão do miocárdio. A partir desta aferição, novas medidas foram realizadas com 12 e 24 horas em análise sequencial. Nesses momentos foi observado que as médias desses marcadores, em cada grupo (Tmz e Placebo), variaram significativamente. Ao analisar o C3 e o C5 ao longo do tempo, o grupo Tmz mostrou tendência a médias inferiores em relação ao grupo placebo, embora sem atingir significância estatística nos dois marcadores (Gráficos 5.8 e 5.9).

Como descrito na seção 2.6.1, a ativação do complemento induz uma cascata de clivagem proteolítica de seus componentes, resultando em diferentes fragmentos biologicamente ativos. Esses componentes ativados desencadeiam vários eventos pró-inflamatórios pelas vias clássica ou alternativa. Em particular, as anafilatoxinas C3a e C5a da via alternativa são potentes ativadores biológicos e têm um papel fundamental na estimulação de leucócitos. Induzem também a adesão de neutrófilos, linfócitos e mastócitos, liberando histamina pela via da degranulação dos basófilos e mastócitos.

Portanto, a estimulação do sistema do complemento durante a revascularização do miocárdio, por contato em superfícies não endotelizadas, leva a várias alterações específicas ao nível celular e humoral, incluindo a remoção de neutrófilos e de outros

leucócitos da circulação sanguínea, liberação de histamina e aumento dos níveis de interleucina 1, 6 e 8. A remoção de leucócitos também é refletida por alterações no nível sérico de moléculas solúveis de adesão celular do sangue periférico – a molécula-1 de adesão intracelular (ICAM) e a molécula de adesão ao endotélio com leucócitos (E-selectina).

Estudos anteriores demonstraram que a CRVM provoca uma diminuição dos níveis séricos de C3, C4 e do inibidor C1, com concomitante aumento dos níveis séricos do C3a, C3b e C5a; aumento da histamina e do IL8; e perda de neutrófilos, eosinófilos e basófilos do sangue periférico, muito provavelmente, devido à migração para o tecido subendotelial (Utoh et al. 1988).

Boralessa et al. (1982) analisaram as alterações na ativação do complemento em cirurgia com CEC e descrevem a queda nos níveis de C3 durante as 8 horas subsequentes, com elevação gradual até 48h. Ao mesmo tempo, sugerem que esta queda se relaciona à ativação do complemento com elevação de C3d, porém o estudo não contempla a análise da reperfusão que se segue ao desclameamento aórtico.

Tarnok et al. (1999), comparando cirurgia cardíaca com e sem CEC em crianças, verificaram que as concentrações séricas de C3 e C5 decrescem nos dois grupos durante a cirurgia e aumentam ao término da mesma. Durante a anestesia, foi observada uma redução desses componentes do complemento seguida por elevações de seus valores no pós-operatório. Os autores observaram que a CEC induz o aumento imediato do C3 e do C5 ativados, produto também da clivagem de C3, sendo maior no momento da reperfusão e atingindo um pico nas quatro horas seguintes, com manutenção dos níveis por 48 horas.

Alguns estudos comparam os componentes da cascata do complemento, em geral na fase de ativação (C3a, C5a, C3b, p. ex.) na CRVM-CEC e na CRVM pura. Comparam também diferentes abordagens na técnica cirúrgica e modificações nos circuitos da CEC, mas associam a análise conjunta com outros marcadores de inflamação. Nesses ensaios, os resultados são consistentes em associar uma maior

ativação do complemento à maior resposta inflamatória (Diegeler et al. 2000; Ascione et al. 2000; Biglioli et al. 2003; Quaniers et al. 2006).

Struber et al. (1999) compararam 24 pacientes submetidos à CRVM-CEC convencional e CRVM-CEC com técnica minimamente invasiva na abordagem do tórax (MIDCAB) e, dentre os marcadores de inflamação, analisaram os níveis médios de C3a logo após o término da CEC (momento da reperfusão), com 2,8 e 24 horas. Entre os resultados, o maior valor ocorreu no momento da reperfusão, com queda ao longo das medidas seguintes, sendo que o grupo tratado com procedimento minimamente invasivo apresentou médias mais baixas em relação ao grupo tratado com procedimento convencional, denotando uma menor agressão pela cadeia do complemento associado ao trauma cirúrgico.

É importante ressaltar que vários mecanismos fisiológicos interagem com a resposta inflamatória. Matata et al. 2000 analisaram vinte pacientes randomizados em dois tipos de CRVM, com e sem CEC. Foram coletadas amostras dos marcadores inflamatórios IL8, C3a, TNF- α , elastase e E-selectina, assim como dos marcadores do stress oxidativo (endoperóxido lipídico e proteína carbonila) em diferentes momentos: antes da indução anestésica, após o início da CEC e com 30 minutos, 1, 2, 4, 8, 24 e 48 horas, seguidamente. Os marcadores da resposta inflamatória mostraram-se mais baixos na CRVM sem CEC e foram relacionados ao menor stress oxidativo. O C3a apresentou uma elevação entre 1 e 2 horas que se seguiram à anastomose coronariana, associando-se ao momento de reversão da heparina pela protamina, que sabidamente induz a ativação do complemento.

Em artigo de revisão, Chakraborti et al. (2000) e Shernan (2003) analisaram o conceito de que a injúria de isquemia e reperfusão desempenha um papel fundamental na mediação da ativação do complemento. O complexo de ataque de membrana (MAC), que se forma no final das vias de ativação do complemento, é observado mais rapidamente quando ocorre a reperfusão. A associação entre neutrófilo, endotélio e complemento, a ação do complemento na aderência e infiltração dos neutrófilos, assim como a relação entre complemento, mitocôndria e isquemia seguida de reperfusão, são tópicos que abordam a relação da reperfusão

com a ativação das vias do complemento no estresse oxidativo.

Pode-se considerar que a ativação do complemento desempenha um papel fundamental na fase inicial da resposta inflamatória na CRVM-CEC. Inibidores de complemento, tais como pexelizumab, um fragmento de anticorpo recombinante que se liga a C5, bloqueando a geração de C5a e C5b-9, vêm atraindo muito interesse. Estudos randomizados e análises retrospectivas de subgrupos sugerem redução da mortalidade em pacientes submetidos a CRVM-CEC. Esses benefícios podem ser particularmente acentuados nos pacientes com alto risco de isquemia e reperfusão, desencadeadas por longos períodos de clampeamento da aorta (Verrier et al. 2004; Kulkarni & Afshar-Kharghan 2008; Warren et al. 2009b).

Neste estudo foram analisadas variações de C3 e C5 no pré-operatório, a partir da reperfusão, quando as amostras foram coletadas após o desclampeamento da aorta, sendo esse o momento em que os valores médios dos grupos analisados ultrapassaram os valores do padrão estabelecido pelo método de nefelometria, com queda até 12 horas e posterior elevação nos valores em 48 horas. Na amostra, os grupos Tmz e Placebo não diferiram significativamente, apresentando a mesma evolução descrita por Tarnok et al. (1999) quando comparam pacientes operados com e sem CEC.

Quando as interleucinas foram analisadas, a IL6 evoluiu ao longo do tempo dentro de cada grupo a partir do desclampeamento da aorta, variando de modo significativo ($p=0,0001$). Analisando os grupos conjuntamente e comparando-os ao longo dos intervalos de tempo, foram observados valores médios significativamente inferiores da IL6 no grupo Tmz em relação ao grupo placebo ($p=0,012$), tornando evidente a diferença na evolução do grupo Tmz. Na análise ao longo do tempo dentro de cada grupo, a IL8 elevou-se de modo significativo ($p=0,0001$). Porém, quando os grupos foram comparados ao longo do tempo no mesmo intervalo das coletas, a curva de valores da IL8 no grupo Tmz apresentou uma aparente redução em relação ao grupo placebo, embora sem atingir significância estatística ($p=0,94$). Seguindo com a análise do TNF- α nos intervalos de coleta mencionados, verificou-se que o mesmo não atingiu valores

observáveis na imunofluorescência, expresso pelo ponto de corte do reagente humano *Kit FlowCytomix* (27ng/dl).

Wan e Yim (1999) notam que a CRVM-CEC tem sido consistentemente associada com a produção de IL6, IL8 e TNF- α . O miocárdio isquêmico e reperfundido foi observado como sendo uma grande fonte dessas interleucinas durante CRVM-CEC (Wan et al. 1996). O TNF- α contribui para a disfunção miocárdica e para a instabilidade hemodinâmica após a CEC. Alguns estudos descrevem níveis sistêmicos elevados de TNF- α durante e após a CEC. Além disso, foi claramente confirmado, pela coleta de sangue do seio coronário ou pela obtenção de biópsia do miocárdio durante cirurgias cardíacas com CEC, que o miocárdio pode liberar TNF- α biologicamente ativo através dos efeitos da isquemia seguida de reperfusão (Wan et al. 1996; Moura et al. 2001; Misoph & Babin-Ebell 1997).

Tonnesen et al. (1996) analisaram o papel das citocinas na CRVM-CEC. O aumento acentuado nos níveis de IL6 e IL8 apareceu durante e imediatamente após a CEC. Seu pico de concentração ocorreu poucas horas após o término da CRVM-CEC, com uma diminuição gradual para níveis normais nas 24h seguintes. A liberação característica da IL6 e IL8 na CEC tem sido demonstrada após cirurgia em hipotermia, bem como em normotermia, não ocorrendo elevações de TNF- α em cirurgia com normotermia (Frering et al. 1994; Tavares-Murta et al. 2007). Pesquisas sobre a resposta do TNF- α na CEC têm sido conflitantes. Um aumento significativo de TNF pode ser evitado pela administração de dexametasona, após a remoção do pinçamento aórtico, enquanto em outros estudos o TNF- α não foi simplesmente detectável no plasma (Kawamura et al. 1993; Sawa et al. 1996; Pintar & Collard 2003). Em um estudo único, conduzido por Horton et al. (1999), o TNF- α foi detectado em alguns pacientes no pré-operatório, mas nenhuma mudança significativa ocorreu durante e após CEC. A CRVM realizada com circuitos revestidos de heparina também não modificou a liberação da IL6 e IL8 durante a CEC.

Dentre os aspectos fisiopatológicos analisados nas cirurgias cardiovasculares, relacionam-se os efeitos deletérios da CEC sobre o organismo. Várias revisões de

ensaios prospectivos e meta-análises de ensaios randomizados comparam os efeitos pró e anti-inflamatórios desse procedimento, sendo evidentes os menores danos inflamatórios nos procedimentos sem CEC. No entanto, não foi observada redução de grandes desfechos clínicos, como mortalidade, acidente vascular encefálico, infarto do miocárdio e a necessidade de reintervenção (Parolari et al. 2003; Larmann & Theilmeier, 2004; Shahzad, 2005; Feng et al. 2009; Takagi et al. 2010; Serrano et al. 2010).

Alguns ensaios que examinaram a evolução das interleucinas em CRVM com e sem CEC, mostraram valores significativamente mais baixos quando a CEC não é utilizada. Neste estudo, como visto, a IL6 apresentou uma redução significativa no grupo Tmz, a partir do momento da reperfusão, ou seja, no ponto em que ocorre um grande estresse oxidativo, 5 minutos após o desclameamento da aorta. A partir dessa coleta, a IL6 atingiu o seu valor máximo em 12 horas, declinando nas 24 seguintes. A IL8 manteve-se constante nos dois grupos, com pico na coleta de 5 minutos. O TNF- α não foi observado em nenhum momento das coletas através do *kit FlowCytomix*, sendo esse resultado comparável a outros estudos (Kawamura et al. 1993; Pintar & Collard, 2003).

Na análise dos leucócitos totais, neutrófilos e monócitos em cinco momentos (pré-operatório, 6, 12, 24 e 48 horas) foi constatado que os leucócitos totais variavam significativamente dentro de cada grupo isoladamente ao longo do tempo ($p=0,0001$) e quando comparados entre os grupos nos intervalos de coleta com valores da média inferiores no grupo Tmz em relação ao grupo placebo ($p=0,012$).

O número de neutrófilos também variou ao longo do tempo em cada grupo de forma significativa ($p=0,0001$). Na análise das médias entre os grupos, o grupo Tmz apresentou valores significativamente inferiores em relação ao placebo ($p=0,005$), a partir do desclameamento da aorta.

Na análise dos monócitos, foi observada uma variação significativa dentro de cada grupo ao longo do tempo, no grupo Tmz ($p=0,003$) e no grupo placebo

($p=0,0001$), com tendência a médias mais baixas no grupo Tmz. Os resultados não atingiram significância estatística nas médias quando os grupos Tmz e placebo foram comparados entre si ao longo dos intervalos de tempo ($p=0,25$).

A CRVM-CEC resulta em ativação de leucócitos, quimiotaxia, adesão do leucócito ao endotélio e transmigração. A ativação dos leucócitos durante a CEC é mediada por contato direto do sangue com o circuito e pela geração e liberação de mediadores inflamatórios, tais como complementos (C3a, C5a), interleucinas (IL6, IL8), fator de ativação plaquetária (PAF), leucotrieno B4 e endotoxinas (Pintar & Collard 2003).

Utoh et al. (1988) examinaram, em vinte pacientes submetidos à CRVM-CEC, conversões no complemento e sequestro de leucócitos. Foi observada uma queda dos níveis de neutrófilos em nível sistêmico na fase inicial da CEC e posteriormente uma elevação dos leucócitos totais com predomínio de neutrófilos durante o primeiro dia de pós-operatório.

Ascione et al. (2000) investigaram o efeito da CRVM com e sem CEC sobre a resposta inflamatória perioperatória em sessenta pacientes. Foram coletadas amostras de soro para a estimativa de granulócito elastase (GEL), interleucina 8, C3a e C5a no pré-operatório e após 1, 4, 12 e 24 horas do pós-operatório. Além disso, a contagem de leucócitos, neutrófilos e monócitos foi realizada no pré-operatório e após 1, 12, 36 e 60 horas do pós-operatório. A incidência global de infecção e os resultados clínicos perioperatórios também foram registrados. Os resultados da concentração da GEL apresentaram valores de pico logo após a CEC, com declínio ao longo do tempo, mas sempre com médias superiores aos valores do grupo sem CEC. A IL8 aumentou significativamente logo após a cirurgia no grupo com CEC, sem declínio durante os intervalos estudados. Os complementos C3a e C5a aumentaram logo após a cirurgia em ambos os grupos, quando comparados com os valores basais. Os valores dos leucócitos, neutrofilos e monócitos foram significativamente maiores no grupo CRVM-CEC. Os autores concluíram que a cirurgia sem CEC está associada à redução significativa na resposta inflamatória e

na infecção pós-operatória.

Neste estudo, a análise dos leucócitos e neutrófilos mostraram uma elevação significativa de seus níveis, em ambos os grupos, no momento do desclameamento da aorta, ou seja, na coleta de cinco minutos realizada direto do átrio direito, refletindo o momento da reperfusão do miocárdio. Os valores máximos foram alcançados na reperfusão e mantidos por 12 horas, com queda progressiva até 48 horas, quando atingiram médias mais próximas aos valores normais, em conformidade com resultados de estudos que comparam cirurgias com e sem CEC (Pintar & Collard 2003; Feng et al. 2009; Serrano et al. 2010). Os níveis de leucócitos e neutrófilos no grupo Tmz apresentaram diferença significativa na comparação com grupo placebo, sendo possível destacar esta evidência. Na análise dos monócitos foi observada uma elevação semelhante no momento do desclameamento da aorta, porém sem atingir um valor médio de relevância estatística, evoluindo com queda até a coleta de 48 horas.

Jordan et al. (1999) relatam em artigo de revisão que os neutrófilos se acumulam na fase precoce da reperfusão e atingem o nível máximo em até 24 horas. Pintar & Collard (2003), em outro artigo de revisão, reforçam os mecanismos de ativação dos leucócitos na CRVM-CEC pela liberação dos mediadores como os complementos (C3a e C5a), as interleucinas (IL6 e IL8), o fator ativador de plaquetas, os leucotrienos e as endotoxinas. Relatam, também, um significativo aumento da endotelina-1, um peptídeo derivado do endotélio que estimula a ativação e o acúmulo de neutrófilos. Os efeitos inflamatórios com liberação das interleucinas (IL6 e IL8) e dos complementos (C3a e C5a) atuam sobre as células da medula óssea, estimulando a produção e liberação de leucócitos (Takatsuki et al. 1990; Laterveer et al. 1995; Suwa et al. 2000; Pruijt et al. 2002; Ratajczak et al. 2007; Schraufstatter et al. 2009).

Pouco se sabe sobre os efeitos diretos da Tmz sobre a dinâmica dos leucócitos na resposta inflamatória. Williams et al. (1993) analisaram experimentalmente a inibição dos neutrófilos pela Tmz após a injúria de isquemia e reperfusão do miocárdio, evidenciando um maior acúmulo miocárdico de neutrófilos após 3 horas da

reperfusão, assim como dos neutrófilos circulantes no grupo controle.

Monti et al. (2001) analisaram experimentalmente a ação da Tmz no bloqueio da liberação de endotelina-1. Essa ação tem como consequência uma maior produção de nitrato, levando à vasodilatação, mas ainda carece de mais análises dos efeitos produzidos sobre os neutrófilos.

Di Napoli et al. (2007) estudaram, em coração isolado de ratos, os efeitos protetores da Tmz e verificaram que esta exerce uma relevante miocardioproteção pela produção de óxido nítrico, preservando a barreira endotelial da circulação coronária contra a reperfusão. Esse mecanismo poderia contribuir para uma maior compreensão da ação cardioprotetora da Tmz após a injúria de isquemia e reperfusão. Tritto et al. (2005) mostraram em seu estudo que a Tmz pode inibir a ativação dos neutrófilos e que esta droga confere proteção contra lesão mediada por eles em corações isquêmicos.

Neste ensaio clínico, foram evidenciadas diferenças significativas nos níveis dos leucócitos e neutrófilos no grupo tratado com Tmz em relação ao grupo placebo. Esses resultados sugerem que a elevação dos níveis de leucócitos totais e de neutrófilos tenha ocorrido pela significativa redução da IL6. O IL8, o C3 e o C5, embora sem redução significativa nos dois grupos, podem ter influenciado os níveis de leucócitos e neutrófilos. Tem sido considerado que a Tmz exerce efeito protetor sobre a célula cardíaca na injúria de isquemia e reperfusão, reduzindo os marcadores de agressão miocárdica, o estresse oxidativo e, conseqüentemente, a resposta inflamatória (Fabiani et al 1992; Turner et al. 1999; Matata et al. 2000; Chakraborti et al. 2000; Vermeiren et al. 2000; Kaminski et al. 2002; Warren et al. 2009a; Martins et al. 2011, entre outros).

A PCR-us foi analisada em dois momentos, no pré-operatório e 48 horas após o ato cirúrgico. Seus valores variaram de modo significativo na análise de cada grupo isoladamente ($p=0,0001$), mas não na análise comparativa entre os grupos no momento delta (48 horas), ou seja, ambos evoluíram de forma semelhante ao longo do tratamento ($p=0,31$).

Os estudos sobre o valor clínico da PCR foram inicialmente direcionados para o acompanhamento e o controle terapêutico de processos inflamatórios. Seu papel como proteína de fase aguda decorre do fato de estar presente em muitos pontos da via inflamatória. Ela é produzida e liberada pelo hepatócito, mas postula-se uma produção também pela parede arterial. Sua formação é estimulada pelas Interleucinas IL-1 e IL-6, liberadas por macrófagos após a fagocitose do antígeno. A determinação laboratorial da PCR como marcador inflamatório é indicada em variadas situações clínicas, tal como na detecção precoce de complicações pós-operatórias. Nos últimos dez anos, entretanto, a análise da PCR frente à doença cardiovascular aterosclerótica passou a receber mais atenção, tendendo a se tornar um marcador de risco desta condição clínica (Santos et al. 2003; Denarti et al. 2008; Ramos et al. 2009; Correia & Esteves 2011).

Figueiredo et al. (2006) abordaram a questão da PCR elevada e a intervenção percutânea e analisaram a PCR como sinalizador de risco cardiovascular relacionado com a atividade inflamatória sistêmica e seu prognóstico; com a intervenção coronária percutânea como fator de inflamação; com a reestenose coronária após a intervenção e sua relação com a PCR e, ainda, analisaram os desdobramentos terapêuticos potenciais destas relações.

Biancari et al. (2003) analisaram o valor preditivo da PCR no pré-operatório, avaliando 764 pacientes submetidos à CRVM-CEC. Os resultados evidenciaram que pacientes com concentração sérica pré-operatória de PCR maior ou igual a 1mg/dl teve um maior risco de morte pós-operatória global, de morte cardíaca, de síndrome de baixo débito cardíaco e qualquer complicação cerebrovascular. Na análise multivariada, a concentração sérica pré-operatória de PCR maior ou igual a 1mg/dl e fração de ejeção do ventrículo esquerdo foram preditores independentes de mortalidade pós-operatória. A taxa de mortalidade pós-operatória foi de 0,3% entre os pacientes com valores de PCR <1mg/dl no pré-operatório e fração de ejeção maior ou igual a 50%, ao passo que entre aqueles com PCR pré-operatória maior ou igual à 1mg/dl e fração de ejeção menor que 50% foi de 21,4%. Os autores concluíram que a PCR é um importante determinante da evolução pós-operatória em CRVM-CEC.

Balciunas et al. (2009) analisaram a PCR como preditor independente de eventos cardiovasculares em pacientes submetidos à CRVM-CEC e sua relação com eventos cardiovasculares pós-cirúrgicos. Níveis de PCR ultra-sensível foram medidos no pré-operatório e no dia da cirurgia em 66 pacientes. A concentração sérica de PCR-us superior a 3.3mg/L estava relacionada com maior risco de eventos cardiovasculares no pós-operatório, tais como lesão miocárdica e baixo débito cardíaco. Os autores consideraram que pacientes com níveis de PCR-us maior ou igual a 3.3mg/L, apresentam um risco maior de eventos cardiovasculares no pós-operatório de CRVM-CEC.

Ensaio que examinam a resposta inflamatória através da PCR comparando seus efeitos em CRVM com e sem CEC evidenciam valores de PCR maiores em pacientes submetidos à CEC (Serrano et al. 2010; Lorenzo et al. 2010).

Neste ensaio, os grupos Tmz e placebo apresentaram elevação significativa da PCR-us em 48 horas ($p=0,0001$). Quando comparados, os grupos não apresentaram diferenças significativas ($p=0,31$). Os valores basais em ambos os grupos encontravam-se dentro da normalidade (inferiores a 1mg/dl).

Biancari et al. (2003) observaram maior incidência de mortalidade no pós-operatório quando a PCR encontrava-se acima deste valor. O período analisado dos valores da PCR, em nosso ensaio, compreendeu as 48 horas que se seguiram ao ato cirúrgico, em que foram evidenciados valores muito elevados nos dois grupos estudados.

Meng et al. (2008) verificaram, em estudo prospectivo, que a PCR atingiu um valor de pico em 12 horas, permanecendo elevada por 24 horas. Balciunas et al. (2009) relataram, também em estudo prospectivo, que a PCR é um preditor independente de complicações pós-operatórias quando atinge níveis séricos superiores a 3,3mg/l. Neste estudo, não observamos complicações pós-operatórias nos grupos durante o período de seguimento (até a alta hospitalar), nem uma maior utilização de aminas, ou um maior tempo de permanência na UTI pelos valores de PCR descritos no estudo de Serrano et al. (2010).

A Tmz é uma droga útil na prevenção da inflamação após angioplastia coronária. O tratamento antes do procedimento com Tmz oral, durante 3 dias, reduz significativamente a elevação de marcadores inflamatórios, antes e logo após PTCA, como apontam Figueiredo et al. (2006).

Di Napoli et al. (2007), em estudo recente, analisaram o impacto da Tmz em marcadores de inflamação na doença isquêmica crônica do coração. Em pacientes com cardiomiopatia isquêmica, foi mostrado que a concentração plasmática de PCR manteve-se inalterada no grupo de doentes que receberam Tmz, enquanto ocorreu aumento progressivo em 18 meses no grupo placebo. Esse efeito antiinflamatório pode estar relacionado à redução significativa da mortalidade e a admissões hospitalares observadas nos mesmos pacientes após 48 meses de tratamento com a substância.

Considerando o descrito na literatura em relação às alterações da função ventricular após o episódio de isquemia e reperfusão, os achados deste estudo foram condizentes com resultados apresentados sobre CRVM.

O melhor modelo para associar inflamação ao efeito da isquemia e reperfusão parece ser o realizado em CRVM, quando, com solução cardioplégica, procura-se proteger o coração isolado em assistolia prolongada. Por esta razão, foi avaliado o efeito adicional da Tmz ao processo, em dose diária de 60mg em pré-tratamento de 10 a 15 dias.

Alguns estudos e ensaios clínicos experimentais nesta área têm demonstrado que a Tmz exerce efeito anti-isquêmico direto, limitando acúmulo de cálcio e acidose, inflamação e produção de radicais hiperóxidos após reperfusão (Renauld 1988; Vendrinne et al. 1996; Iskesen et al. 2006; Gao et al. 2011). Entretanto, esses efeitos metabólicos não estão muito claros e recentemente alguns estudos têm evidenciado a proteção mitocondrial contra o dano pelo estresse oxidativo e inflamação (Argaud et al. 2005).

6.3 DOS EFEITOS COLATERAIS

Não ocorreram efeitos colaterais significativos (náuseas, vômitos, epigastralgia, cefaléia ou prurido) nos pacientes avaliados em ambos os grupos.

6.4 DAS LIMITAÇÕES DO ESTUDO

São aqui consideradas duas limitações contempladas como as mais importantes neste estudo. A primeira diz respeito ao tamanho da amostra. Apesar de comparável a outros estudos examinados na literatura sobre avaliação dos marcadores inflamatórios antes e após a CRVM-CEC, uma investigação em uma população maior poderia trazer mais consistência e maior sustentação aos resultados aqui descritos.

A segunda diz respeito à avaliação temporal de alguns marcadores, como a IL6 e IL8, que podem apresentar pico após a CEC em intervalos inferiores a 12 horas, e os complementos C3 e C5, que também podem estar elevados após 4 horas da CEC. Em relação ao protocolo utilizado com intervalos de 12 horas, os resultados replicam alguns estudos encontrados na avaliação experimental em animais e em humanos com metodologia semelhantes.

6.5 DAS IMPLICAÇÕES CLÍNICAS

Independentemente das limitações, os resultados obtidos e analisados na presente pesquisa, mostraram-se favoráveis diante das evidências científicas atuais, seja no que concerne aos níveis reduzidos dos biomarcadores no grupo tratado; à ausência de efeitos desfavoráveis da droga; às prováveis implicações de bom prognóstico referentes a uma menor resposta inflamatória tanto na reperfusão quanto nos momentos relacionados ao pós operatório. Atenderam parcialmente às expectativas e corroboraram com estudos prévios, que apontam possibilidades potenciais preventivas sobre a resposta inflamatória com CEC.

Os resultados deste estudo podem dar margem para o desenvolvimento de ensaios clínicos mais elaborados, visando a confirmação desta investigação, tendo como possibilidade acrescentar a Tmz no arsenal terapêutico dos pacientes com indicação de CRVM como fator protetor coadjuvante à solução cardioplégica.

Os resultados, ainda que sugerindo uma ação benéfica da Tmz em pré-tratamento aos pacientes que serão submetidos à CRVM, não podem ser, necessariamente e de imediato, extrapolados para sua utilização de rotina no pré-operatório.

CAPÍTULO 7. CONCLUSÕES

Neste estudo duplo-cego, em que se comparam os efeitos da trimetazidina sobre os marcadores inflamatórios na injúria de isquemia e reperfusão do miocárdio com placebo, administrada como pré-tratamento, aos pacientes submetidos à cirurgia de revascularização com CEC e com função ventricular normal ou disfunção leve, observou-se:

Que não se alteraram os marcadores C3, C5, IL8, TNF- α e PCR nos pacientes que utilizaram a droga em relação ao placebo.

Que houve diferença significativa dos níveis da IL6 apartir do desclameamento aórtico no término da cirurgia nos pacientes que utilizaram a droga em relação ao placebo.

Que também houve diferença significativa nos leucócitos e neutrófilos em toda sua evolução após o desclameamento aórtico nos que utilizaram a droga em relação ao placebo.

Que os valores dos monócitos não variaram significativamente entre pacientes que utilizaram a droga em relação ao placebo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albengres E, Tillerment JP, Le Louet H et al. Trimetazidine: experimental and clinical update review. *Cardiovasc Drug Rev.*1998;16(4):359-390.

Albert AA, Beller CJ, Walter JA et al. Preoperative high leukocyte count: a novel risk factor for stroke after cardiac surgery. *The Ann Thorac Surg*;75:1550-1557.

Alexiou C, Tang AAT, Sheppard SV et al. The effect of leucodepletion on leucocyte activation, pulmonary inflammation and respiratory index in surgery for coronary revascularization: a prospective randomized study. *Eur J Cardiothorac Surg* .2004;26:294-300.

Allibardi S, Chierchia SL, Margonato V et al. Effects of trimetazidine on the metabolic and functional recovery of postischemic rat hearts. *Cardiovasc Drugs Ther.* 1998;12(6):543-9.

Apstein CS. Metabolic approaches in ischemic heart disease. *Eur Heart J.* 1999; 1:1-10.

Argaud L, Gomes L, Roesch O et al. Trimetazidine inhibits mitochondrial permeability transition pore opening and prevents lethal ischemia-reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol.* 2005; 39:893-9.

Artigou JY, Chamiot JC, Bonnefont-Rousselot D et al. Le traitement antioxydant dans l'ischémie reperfusion myocardique. *Arch Mal Couer.* 1993; 86(IV):105-109.

Ascione R, Lloyd CT, Underwood MJ et al. Inflammatory response after coronary revascularization with or without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2000;69:1198-1204.

Aussedat J, Ray A, Kay L et al. Improvement of long-term preservation of isolated arrested rat heart: beneficial effect of the antiischemic agent trimetazidine. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1993; 21:128-35.

Aydin NB, Gercekoglu H, Aksu B et al. Endotoxemia in coronary artery bypass surgery: a comparison of the off-pump technique and conventional cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.*2003;125:843-848.

Balciunas M, Bagdonaite L, Samalavicius R et al. Pre-operative high sensitive C-reactive protein predicts cardiovascular events after coronary artery bypass grafting surgery: A prospective observational study. *Ann of Cardiac Anaesth.* 2009;12(2):127-132.

Banani EH, Bernard M, Cozzone P, et al. Ionic and metabolic imbalance as potential factors of ischemia reperfusion injury. *Am J Cardiol.* 1998;82(5):25K-29K.

Bayer A, Dogan OF, Ersoy F et al. The effect of open heart surgery on circulating lymphocytes and lymphocyte subsets in pediatric patients. *Turk J Thorac Cardiovasc Surg.* 2006;17(1):13-17.

Beltrán AE, Concepción F, Manzanares D et al. Heparin and low molecular weight heparin decrease nitric oxide production by human polymorphonuclear cells.

Archives of Medical Research,1999;30:116-119.

Biancari F, Lahtinen J, Lepojavi S et al. Preoperative C-reactive proyein and outcome after coronary artery bypass surgery. *Ann Thorac Surg.*2003;76(6):2007-2012.

Biglioli P, Cannata A, Alamanni et al. 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; 24:260-269.

Bolli R. Mechanism of myocardial stunning. *Circulation.*1990;82:723-28.

Bonello L, Sbragia P, Amabile N et al. Proctetive effect of an acute oral loading dose of trimetazidine on myocardial injury following percutaneous coronary intervention. *Heart.* 2007;93:703-707.

Bonvini RF, Hendiri T, and Carmenzind E. Inflammatory response post-myocardial infarction and reperfusion: a new therapeutic target? *European Heart Journ Suppl* 2005(7) suppl1:127-136.

Boralessa H, Shiffri JA, Zaimi F et al. Perioperative changes in complement associated with cardiopulmonary bypass. *Brit J Anesth.* 1982;54(10):1047-1052.

Boyle EM, Pohlman TH, Johnson MC et al. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: The systemic inflammatory response. *Ann Thorac Surg.*1997;63:277-284.

Braasch W, Gudbjarson S, Puri PS et al. Early changes in energy metabolism in the myocardium following acute coronary artery occlusion in anesthetized dogs. *Circ Res.* 1968;23:429-38.

Brasileiro ALS. A injúria de reperfusão miocárdica. *Rev SOCERJ.*1997; X(2):79-88.

Bucerius J, Gummert JF, Borger MA et al. Stroke after cardiac surgery: a risk factor analysis of 16,184 consecutive adult patients. *Ann Thorac Surg.*2003;75:472-478.

Buja L. Maximilian. Myocardial ischemia and reperfusion injury. *Cardiovascular Pathology.* 2005;14:170-5.

Burton KP. Evidence of direct toxic spectro of free radicals on the myocardium. *Free Radic Biol Med.* 1988;4:15-24.

Butler J, Parker D, Pillai R et al. Effect of cardiopulmonary bypass on systemic release of neutrophil elastase and tumor necrosis factor. *J Thorac Cardiovasc Surg,* 1993;105:25-30.

Byrne JG, Karavas AN, Elhalabi A et al. Myocardial neutrophil sequestration during reperfusion of the transplanted rabbit heart. *J Heart Lung Transplant.* 2000;19:786-791.

Camacho SA, Lanzer P, Toy BJ et al. In vivo alterations of high-energy phosphates and intracellular pH during reversible ischemia in pigs: a ^3P magnetic ressonance spectroscopy study. *Am Heart J.* 1988;116:701-8.

Capdevila C, Portolés M, Hernandez A et al. La troponina t como posible marcador del dano miocárdico menor: su aplicación en el miocárdio aturdido y en la

isquemia silente. *Rev Esp Cardiol.* 2001;54:580-91.

Cappabianca G, Rotunno C, Schinosa LLT et al. Protective Effects of steroids in cardiac surgery: A meta-analysis of randomized double-blind trials. *Journ of Cardiothor and Vasc Anesth.*2011;25(1):156-165.

Carafoli E, Penniston JT. La señal del calcio. *Investigación y Ciência.* 1986;112:28-37.

Cardigan RA, Mackie IJ, and Machin SJ. Hemostatic-endothelial interactions: a potential role of the endothelium in the pulmonary circulation during cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 1997;11(3):329-336.

Carr JÁ and, Silverman N. The heparin-protamine interaction. A review. *J Cardiovasc Surg.*1999;40(5):659-666.

Cerqueira DM, Weissman JN, Dilsizian V. Standardized myocardial segmentation and nomenclature for tomographic imaging of the heart. *Circulation.* 2002;105:539-42.

Chakraborti T, Mandal A, Mandal M et al. Complement activation in heart diseases: role of oxidants. *Cellular Signalling.* 2000;12:607-617.

Chandrashekar B, Mitchell D, Colston J et al. Regulation of CCAAT/Enhancer binding protein, interleukin-6, interleukin-6 receptor, and GP 130 expression during myocardial ischemia/reperfusion. *Circulation.*1999;99:427-433.

Chen WT, Krishnan GM, Sood N et al. Effect of statins on atrial fibrillation after cardiac surgery: A duration- and dose-response meta-analysis. *J Thorac Cardiovasc Surg.*2010;140:363-372.

Chien LG, Wolff AR, Davis FR et al. "Normothermic range" temperature affects myocardial infarct size. *Cardiovasc Res.*1994;28(7):1014-7.

Christman JW, Lancaster LH, and Blackwell TS. Nuclear factor κ B: a pivotal role in the systemic inflammatory response syndrome and new target for therapy. *Intensive Care Med* 1998;24:1131-1138.

Cole WC, McPherson CD, Sontag D et al. ATP-regulated K⁺ channels protect the myocardium against ischemia reperfusion damage. *Circ Res.* 1991;69:571-81.

Collard CD and Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001;94:1133-1138.

Colman RW. Surface-mediated defense reactions. The plasma contact activation system. *J Clin Invest.*1984;73:1249-1253.

Correia LCL e Esteves JP. Proteína C-reativa e prognóstico em síndromes coronarianas agudas: revisão sistemática e metanálise. *Arq Bras Cardiol.*2011;97(1):76-85.

Danese S, Vetrano S, Zhang L et al. The protein C pathway in tissue inflammation and injury: pathogenic role and therapeutic implications. *Blood.*2010;115:1121-1130.

Danese S, Vetrano S, Zhang L. et al. The protein C pathway in tissue inflammation and injury: pathogenic role and therapeutic implications. *Blood*. 2010;115:1121-1130.

Day JRS and Taylor KM. The systemic inflammatory response syndrome and cardiopulmonary bypass. *Intern J Surg*.2005;3:129-140.

Denardi CAS, Filho AC, Chagas ACP. A protein c-reativa na atualidade. *Rev SOCERJ*.2008;21(5):329-334.

Despotis GJ and Goodnough TL. Management approaches to platelet-related microvascular bleeding in cardiothoracic surgery. *Ann Thorac Surg*.2000;70:S20-32.

Di Napoli P and Barsotti A. Anti-inflammatory effects of trimetazidine in patients with ischemic heart disease. *Arch Med Sci* 2007;3;3A:S10-S16.

Di Napoli P, Di Giovanni P, Gaeta MA et al. Trimetazidine and reduction in mortality and hospitalization in patients with ischemic dilated cardiomyopathy: A post hoc analysis of the Villa Pini D'Abruzzo trimetazidina trial. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007;50:585-589.

Di Napoli P, Taccardi AA, Barsotti A. Long term cardioprotective action of trimetazidine and potential effect on the inflammatory process in patients with ischaemic dilated cardiomyopathy. *Heart* 2005;91:161-165.

Di Napoli P. Anti-ischemic cardioprotection with trimetazidine. *Heart Metab*.2008;41:25-29.

Diegeler A, Doll N, Rauch T et al. Humoral immune response during coronary artery bypass grafting. *Circulation*. 2000;102(suppl III): 95-100.

Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Diretriz de Doença Coronariana Crônica (SBC-DCC): angina estável. *Arch Bras Cardiol*. 2004;83(supl II):1-43.

Downing SW and Edmunds LH. Release of vasoactive substances during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 1992;54(Issue 6):1236-1243.

Edmunds LH, and Colman RW. Thrombin during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*.2006;82:2315-2322.

Edmunds LH, Ellinson N, Colman RW et al. Platelet function during cardiac operation: comparison of membrane and bubble oxygenators. *J Thorac Cardiovasc Surg*.1995;83:805-812.

Edmunds LH. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 1998; 66:S12-S16.

Engelmann B. Initiation of coagulation by tissue factor carries in blood. *Blood Cells, Molecules and Diseases*.2006;36:188-190.

Fabiani JN, Ponzio O, Emerit I et al. Cardioprotective effect of trimetazidine during coronary artery graft surgery. *J Cardiovasc Surg*. 1992;33(4):486-91.

Fang MK, Lee AS, Su JM et al. Free fatty acids act as endogenous ionophores, resulting in Na⁺ and Ca⁺⁺ influx and myocyte apoptosis. *Cardiovasc Research* 2008;1:1-13.

Feng Z, Shi J, Zhao XW et al. Meta-analysis of on-pump and off-pump coronary arterial revascularization. *Ann Thorac Surg.*2009;87:757-65.

Ferez S, De la Peña A, Márquez M et al. Dano miocárdico por reperfusión: su impacto en la clínica. Parte I. *Arch Inst Cardiol Mex.* 1998;68(6):431-7.

Ferrari R, Pepi P, Ferrari F et al. Metabolism derangement in ischemic heart disease and its therapeutic control. *Am J Cardiol.* 1998;82:2K-13.

Figueiredo LG & Martin-Neto JA. Proteína C-reativa elevada e intervenção coronária percutânea: causa ou efeito? *Rev Bras Cardiol Invas;*2006;14(1):7-9.

Frering B, Philip I, Dehoux M et al. Circulation cytokines in patients undergoing normothermic cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.*1994;108(4):636-641.

Fung YL, Silliman CC, Minchinton RM et al. Cardiopulmonary bypass induces enduring alterations to host neutrophil physiology: a single-center longitudinal observational study. *Shock;*2008;30(6):642-648.

Gabay C, Kushner I. Mechanisms of disease: acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med.*1999;340(6): 448-454.

Gadaleta D, Fathey AL, Verma M et al. Neutrophil leukotriene generation increases after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.*1994;108:642-647.

Gambert S, vergely C, Filomenko R et al. Adverse effects of free fatty acid associated with increased oxidative stress in postischemic isolated rat hearts. *Mol Cell Biochem.*2006;283:147-152.

Gao D, Ning N, Niu X, Hao G et al. Trimetazidine: a meta-analysis of randomized controlled trials in heart failure. *Heart.*2011;97:278-286.

García-Dorado D, Fernández F. Mecanismos fisiopatológicos de la isquemia y la reperfusión miocárdica. *Rev Esp Cardiol.* 1988;4:109-18.

Gibbons R. Task Force Members. ACC/AHA/ACP-ASIM. Guidelines for management of patients with chronic stable angina. *J Am Coll Cardiol.* 2002;1:1-32.

Gikakis N, Khan MM, Hiramatsu Y et al. Effect of factor Xa inhibitors on thrombin formation and complement and neutrophil activation during in vitro extracorporeal circulation. *Circulation.*1996;1;94(suppl 9):II341-6.

Gillinov AM, DeValeria PA, Winkelstein JA et al. Complement inhibition with soluble complement receptor type 1 in cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1993;55:619-624.

Gomes MAM, Neto NCM e Bispo GA. Interleucina-6, moléculas de adesão intercelular-1 e microalbuminúria na avaliação da lesão endotelial: revisão de literatura. *Rev SOCERJ*.2009;22(6):398-403.

Gonzales-Bertomeu V, Mosquera-Bougas A, Kaski CJ. Role of trimetazidine in management of ischemic cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 2006;98(Suppl):19J-24.

Gossmann LD, Prigent LK, Feuvray D. Effects of trimetazidine on pHi regulation in the rat isolated ventricle myocyte. *British J Pharmacol* 1996;117:831-8.

Gram J, Janetzko T, Jespersen J et al. Enhanced effective fibrinolysis following the neutralization of heparin in open heart surgery increases the risk of post-surgical bleeding. *Thromb Haemost*, 1990;12;63(2):241-245.

Greilich PE, Brouse CF, Rinder HM et al. Monocyte activation in on-pump versus off-pump coronary artery bypass surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth*.2008;22(3):361-368.

Grover FL. The society of thoracic surgeons national database: current status and future directions. *Ann Thorac Surg*. 1999;68:367-373.

Hamilton KK, Hattori R, Esmon CT et al. Complement proteins C5b-9 induce vesiculation of the endothelial plasma membrane and expose catalytic surface for assembly of the prothrombinase enzyme complex. *J Biol Chem*. 1990;265;7(Issue 5):3809-3814.

Hammon JW. The response of humoral and cellular elements of blood to extracorporeal circulation. *Cardiac Surgery in the Adult*. 2008; 3th edition;Chap 12b:1-48.

Hansen PR. Role of neutrophils in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation*. 1995;91:1872-1885.

Harris AS. Potassium and experimental coronary occlusion. *Am Heart Journ*. 1966;71:797-802.

Hattori T, Mohammad M, Khan H et al. Plasma tissue factor puls activated peripheral mononuclear cells activate factors VII and X in cardiac surgical wounds. *JACC*. 2005;46:707-713.

Henry DT, Stephen LA, Nelson D et al. Enhanced chemiluminescence as a measure of assess-derived free radical generation during ischemia and reperfusion. *Circul Res*. 1990;67(96):1453-60.

Hess ML, Manson NH. Molecular oxygen: friend and foe. The role of the oxygen free radical system in the calcium paradox, the oxygen paradox and ischemia/reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol*. 1984;16:969-85.

Heyndrickx GR, Millard RW, McRitchie J et al. Regional myocardial assessment and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion assessment in dogs. *J Clin Invest*. 1975;56:978-85.

Holdright DR, Hunt BJ, Parratt R et al. the effects of cardiopulmonary bypass on systemic and coronary levels of von Willebrand factor. *Eur J Cardio-Thorac Surg.* 1995;9:8-12.

Horton SB, Butt WW, Mullaly RJ et al. IL-6 and IL-8 levels after cardiopulmonary bypass are not affected by surface coating. *Ann Thorac Surg.* 1999;68:1751-1755.

Hunt BJ, Parratt RN, Segal HC et al. Activation of coagulation and fibrinolysis during cardiothoracic operations. *Ann Thorac Surg.* 1998;65:712-718.

Iskesen I, Saribulbul O, Cerrahoglu M et al. Trimetazidine reduces oxidative stress in assessment surgery. *Circ Journal.* 2006;70:1169-73.

Jennings RB, Hawkins HK, Loewe JE et al. Relation between high energy phosphate and lethal injury in myocardial ischemia in the dog. *Am J Cardiol.* 1987;92:187-214.

Jordan JE, Zhao ZQ, Johansen-VJ. The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Research.* 1999;43:860-878.

Kahles H, Schafer W, Lick TH et al. Changes in myocardial substrate and energy metabolism by S-(4)-hydroxyphenylglycine and an N-(6)-derivative of adenosine. *Basic Research Cardiol.* 1986;81(3):258-266.

Kaminski KA, Bonda TA, Korecki J et al. Oxidative stress and neutrophil activation-the two keystones of ischemia/reperfusion injury. *Intern Journ Cardiol.* 2002;86:41-59.

Karmazin M. The sodium-hydrogen exchange system in the heart: its role in ischemic and reperfusion injury and therapeutic implications. *Can J Cardiol.* 1996;12(10):1074-82.

Kawamura T, Wakusawa R, Okada K et al. Elevation of cytokines during open heart surgery with cardiopulmonary bypass: participation of interleukin 8 and 6 in reperfusion injury. *Can J Anesth.* 1993;Nov;40(11):1016-1021.

Khallif PN, Ismail M, Kalmar P et al. Activation of fibrinolysis in the pericardial cavity after cardiopulmonary bypass. *Thromb and Haemost.* 2004;92/3:435-671.

Khan MMH, Hattori T, Niewiarowski S et al. Truncated and microparticle-free soluble tissue factor bound to peripheral monocytes preferentially activate factor VII. *Thromb Haemost.* 2006;95(3):397-590.

Kin H, Zhao ZQ, Sun HY et al. Post conditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Research.* 2004;62:74-75.

Kirklin JK, Westaby S, Blackstone EH et al. Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1983;86:845-857.

Klein DJ, Briet F, Nisenbaum R et al. Endotoxemia related to cardiopulmonary bypass is associated with increased risk of infection after cardiac surgery: a prospective observational study. *Critical Care.* 2011;15:1-5.

Klein HH, Nebendahl K, Schubote M et al. Intracoronary hyperosmotic mannitol during reperfusion does not affect infarct size in ischemic reperfused porcine hearts. *Basic Res Cardiol*. 1985;80:251-9.

Kollef MH, Wragge T and Pasque C. Determinants of mortality and multiorgan dysfunction in cardiac surgery patients requiring prolonged mechanical ventilation. *Chest*. 1995;107:1395-1401.

Kukielka GL, Smith CW, Manning AM et al. Introduction of interleukin-6 synthesis in the myocardium. Potential role in postperfusion inflammatory injury. *Circulation*. 1995;92(7):1866-75.

Kulkarni PA & Afshar-Kharghan. Anticomplement therapy. *Biologics: Targets & Therapy*. 2008;;2(4)671-685.

Kuralay F, Altekin E, Yazlar AS et al. Suppression of angioplasty-related inflammation by pré-procedural treatment with trimetazidine. *Tohoku J Exp Med* 2006;208:203-212.

Labow SR, Hendry JP, Meek E et al. Temperature affects human cardiac sarcoplasmic reticulum energy-mediated calcium transport. *J Mol Cell Cardiol*. 1993;25:1161-1170.

Laffey JG; Boylan JF, and Cheng DCH. The systemic inflammatory response to cardiac surgery. *Anesthesiology*. 2002;97:215-252.

Lang MR, Bierig M, Devereux BR et al. Recommendations for chamber quantification. *Eur J Echocardiog*. 2005;7:79-108.

Larmann J and Theilmeier G. Inflammatory response to cardiac surgery: cardiopulmonary bypass versus non-cardiopulmonary bypass surgery. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*. 2004;18(3):425-438.

Lazar HL, Philippies G, Fitzgerald C et al. Glucose-insulin-potassium solutions enhance recovery after urgent coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1997;113:354-62.

Lazzarino G, Raatikainen P, Nuutinen M et al. Myocardial release of malondialdehyde and purine compounds during coronary artery bypass surgery. *Circulation*. 1994;90:291-7.

Lerch R. Oxidative substrate metabolism during postischemic reperfusion. *Basic Res Cardiol*. 1993; 88:525-544.

Levin EG, Santell L. Stimulation and desensitization of tissue plasminogen activator release from human endothelial cells. *J Biol Chem*. 1988;263;19(issue 5): 9360-9365.

Levy JH, Tanaka KA. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 2003;75:S715-720.

Liedtke AJ, Demason L, Nellies HS. Effects of L-propionylcarnitine on mechanical recovery during reflow in intact hearts. *Am. J. Physiol*. 1988;255:H169-76

Liu B, Clanachan AS, Lopaschuk GD et al. Cardiac efficiency is improved following ischemia by altering both source and fate of protons. *Circ Res.* 1996;79:940-8.

Lopaschuk GD, Kozak R, Lucien A et al. The antianginal drug trimetazidine shifts cardiac energy metabolism from fatty acid oxidation to glucose oxidation by inhibiting mitochondrial long-chain 3-ketoacyl coenzyme A thiolase. *Circ Res.* 2000;86(5):580-8.

Lopaschuk GD, Ussher JR, Folmes CD et al. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease. *Physiol rev.* 2010;90:207-258.

Lopaschuk GD. Optimizing cardiac energy metabolism: a new approach to treating ischaemic heart disease. *Eur Heart J.* 1999;1:32-9.

Lopaschuk GD. Treating ischemia heart disease by pharmacologically improving cardiac energy metabolism. *Am J Cardiol.* 1998;82:14K-17.

Lorenzo AR, Pitella FJM, Chimelli AP et al. Proteína C reativa: novo marcador de risco após cirurgia de revascularização do miocárdica? *Rev Bras Cardiol.* 2011;24(supl A):12-14.

Malbouisson SML, Santos ML, Auler CO et al. Proteção miocárdica em cirurgia cardíaca. *Revista Brasil Anest.* 2005;55(5):558-74.

Malmberg K, Ryden L, Efendil S et al. Randomized trial of insuline-glucose followed by subcutaneous insuline treatment in diabetic patients with acute myocardial infarction (DIGAMI study): effects on mortality at 1 year. *J Am Coll Cardiol.* 1995;26(1):57-65.

Manchandra SC, Krishnaswami S. Combination treatment with trimetazidine and diltiazem in stable angina pectoris. *Heart.* 1997;78:353-357.

Maridonneau-Parini I, Harpey C. Effect of trimetazidine on dismutase damage induced by oxygen free radicals in human red cells. *Br J Clin Pharmacol.* 1985;20(2):148-51.

Markewitz A, Faist E, Lang S et al. Successful restoration of cell-mediated immune response after cardiopulmonary bypass by immunomodulation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1993;105:15-24.

Maroko RP, Kjekshus KJ, Braunwald E et al. Factors influencing infarct size following experimental coronary artery occlusions. *Circulation.* 1971;53:67-82.

Martins, GF (2008) Efeito da trimetazidina na injúria de reperfusão em cirurgia de revascularização do miocárdio. 2008. Dissertação (Mestrado em Medicina, Cardiologia). Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Martins, GF; Siqueira Filho AG, Santos JBFS. Trimetazidina na injúria de isquemia e reperfusão em cirurgia de revascularização do miocárdio. *Arq Bras Cardiol.* 2011;97(3):209-216.

Matata BM, Sosnowski AW, Galinanes M. Off-pump bypass graft operation significantly reduces oxidative stress and inflammation. *Ann Thorac Surg* 2000;69:785-791.

Maugeri N, Brambilla M, Camera M et al. Human polymorphonuclear leukocytes produce and Express functional tissue factor upon stimulation. *J Thromb Haemost.* 2006;4(6):1323-1330.

Maupoil V, Chaillot B, Rochette L et al. Identification et evaluation des radicaux libres dans la sequence ischémie-reperfusion cardiaque. *Arch Mal Coeur.* 1993;86 (IV):63-8.

Maxwell JRS, Lip HYG. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *Intern J Cardiol.* 1997;58:95-117.

McBride WT, McBride SJ. The balance of pro and anti-inflammatory cytokines in cardiac surgery. *Curr Opin Anaesth.* 1998;11:15-22.

McCord MJ. Oxygen-derived radicals: a link between reperfusion injury and inflammation. *Federation Proc.* 1987;46:2402-6.

McGowan FX, Davis PJ, Siewers RD et al. Coronary vasoconstriction mediated by endothelin-1 in neonates. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1995;109:88-98.

McGuinness, Bouchier-Hayes D, and Redmond JM. Understanding the inflammatory response to cardiac surgery. *Surgeon.* 2008;6(3):162-171.

Meng QH, Zhu S, Sohn N et al. Release of cardiac biochemical and inflammatory markers in patients on cardiopulmonary bypass undergoing coronary artery bypass grafting. *J Card Surg.* 2008;23:681-687.

Misoph M, Babin-Ebell J. Interindividual variations in cytokine levels following cardiopulmonary bypass. *Heart Vessels.* 1997;12:119-127.

Moens AL, Claeys M, Timmermans J et al. Myocardial ischemia/reperfusion-injury a clinical view on a complex pathophysiological process. *Intern J Cardiol.* 2004;100:179-90.

Monpere C, Brochier M, Demange J et al. Combination of trimetazidine with nifedipine in effort angina. *Cardiovasc Drugs Ther.* 1990;4(Suppl 4):824-5.

Monti LD, Allibardi S, Piatti PM et al. Triglycerides impair postischemic recovery in isolated heart: roles of endothelin-1 and trimetazidine. *Am J Physiol Heart.* 2001;281:H1122-1130.

Moreno-Sanchez R, Torres-Marques ME, Devars S. Oxidación de sustratos en el miocárdio. *Arch Inst Cardiol Mex.* 1991;60:587-91.

Moreno-Sanchez R. Inhibition of oxidative phosphorylation by a Ca⁺ induced diminution of the adenine nucleotide translocation. *Biochim Biophys Acta.* 1985;724:278-85.

Morley JJ and Kushner I. Serum C-reactive protein levels in disease. *Ann N Y Acad Sci.* 1982;389:406-418.

Moura HV, Pomerantzeff PMA & Gomes WJ. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2001;16(4):367-387.

Murad H. Proteção miocárdica por cardioplegia sanguínea ou acelular durante circulação extracorpórea. Avaliação estrutural miocárdica no cão. 1982. Tese (Doutorado em Medicina, Cirurgia-Setor Tórax). Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 1982.

Myers CL, Weiss SL, Kirsh MM. Involvement of hydrogen peroxide and hydroxyl radical in the 144ismut paradox: reduction of creatine kinase release by catalasa, allopurinol or deferoxamine, but not superoxide dismutase. *J Mol Cell Cardiol* 1985;17:648-75.

Nieuwland R, Berckmans RJ, Rotteveel-Eijkman et al. Cell derived microparticles generated in patients during cardiopulmonary bypass are highly procoagulant. *Circulation*. 1997;96:3534-3541.

Nijziel M, Oerle RV, Van'tVeer C et al. Tissue factor activity in human monocytes is regulated by plasma: implications for the high and low responder phenomenon. *British J Haematol*. 2001;112:98-104.

Nissinen J, Biancari F, Wistbacka J et al. Safe time limits of aortic cross-clamping and cardiopulmonary bypass in adult cardiac surgery. *Perfusion*. 2009;24(5):297-305.

Noma A. ATP-regulated K⁺ channels in cardiac muscle. *Nature*. 1983;305:147-148.

Nonami Y. The role of nitric oxide in cardiac ischemia-reperfusion injury. *Japan Circ J*. 1997;61:119-132.

Ohri SK, Paratt R, Becket JM et al. Genetically engineered serine protease inhibitor for hemostasis after cardiac operations. *Ann Thorac Surg*. 1993;61:1223-1230.

Olivier MR, Kurien VA, Greenwork TW et al. Relation between serum-free fatty acids and dismutase¹⁴⁴ and death after myocardial infarction. *Lancet*. 1968;1:710-5.

Opie LH, Dphil MD. Reperfusion injury and its pharmacologic modification. *Circulation*. 1989;80:1049-62.

Opie LH. Glucose and the metabolism of ischemic myocardium. *Lancet*. 1995;345:1520-1.

Opie LH. Role of carnitine in fatty acid metabolism of normal and ischemic myocardium. *Am Heart J*. 1979;97:373-88.

Oudemans WS, Velthuis M, Jansen PG et al. Myocardial performance in elderly patients after cardiopulmonary bypass is suppressed by tumor necrosis factor. *J Cardiothorac Cardiovasc Surg*. 1996;110:1663-1669.

Pantos C, Tzeis S, Jacquet BA et al. Trimetazidine protects isolated rat hearts against ischemia-reperfusion injury in a dismutase timing-dependent manner. *Basic Res Cardiol*. 2005;100:154-60.

Paparella D, Yau TM, and Young E. Cardiopulmonary bypass induced inflammation: pathophysiology and treatment. An update. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2002;21:232-244.

Paparella D, Brister ST and Buchanan MR. Coagulation disorders of cardiopulmonary bypass: a review. *Intensive care Med.* 2004;30:1873-1881.

Parang P, Singh B, Arora R. Metabolic modulators for chronic cardiac ischemia. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2005;10(4):217-23.

Park J, Lucchesi B. Mechanisms of dismutase reperfused injury. *Ann Thorac Surg.* 1999;68:1905-12.

Parolari A, Alamanni F, Cannata A et al. Off-pump versus on-pump coronary artery bypass: Meta-analysis of currently available randomized trials. *Ann Thorac Surg.* 2003;76:37-40.

Pavelková M, Kubala L, Ciz M et al. Blood phagocyte activation during open heart surgery with cardiopulmonary bypass. *Physiol Res.* 2006;55:165-173.

Persad S, Gupta KK, Dhalla NS. Status of Ca^{++} - channels in hearts perfused with Ca^{++} - free medium as well as upon reperfusion (Ca^{++} paradox). *J Mol Cell Cardiol.* 1995;27:513-22.

Petajä J, Pesonen E, Fernandez JA et al. Activated protein C and inflammation in human after heart surgery. *Am J Hemat.* 2001;67(3):210-212.

Philip FB, Dehoux M, Rolland C et al. Circulation cytokines in patients undergoing normothermic cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994;108(4):636-641.

Philippou H, Adami A, Davidson SJ et al. Tissue factor is rapidly elevated in plasma collected from the pericardial cavity during cardiopulmonary bypass. *Thromb and Haemost.* 2000;84(1):124-128.

Phillippou H, Davidson SJ, Mole MT et al. Two-Chain factor VIIa generated in the pericardium during surgery with cardiopulmonary bypass. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:248-254.

Piccoli M, Cerqueira E, Pastena G et al. Lone increase in C-reactive protein after cardiac surgery: prevalence, clinical characteristics, in hospital course, and prognostic value. *Eur J Cardiovasc Preve Rehabil.* 2008;15:482-487.

Pichon H, Chocron S, Kifah A et al. Cristalloid versus cold blood cardioplegia and cardiac troponin I. *Circulation.* 1997;96(1):316-20.

Picone AL, Lutz CJ, Finck C et al. Multiple sequential insults cause post-pump syndrome. *Ann Thorac Surg.* 1999;67:978-985.

Pintar T, Collard CD. The systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology Clin N Am.* 2003;21:453-464.

Piper HM, Garcia-Dorado D and Ovize M. A fresh look at reperfusion injury. *Cardiovascular Research.* 1998;38:291-300.

Pixley RA, Schapira M and, Colman RW. Effect of heparin on the inactivation rate of human activated factor XII by antithrombin III. *Blood.* 1985;66(1):198-203.

Pruijt JFM, Verzaal P, Van Os R et al. Neutrophils are indispensable for hematopoietic stem cell mobilization induced by interleukin-8 in mice. *Proc Natl Acad Sci.* 2002;99(9):6228-6233.

Pudil R, Krejsek V, Gregor J et al. Inflammatory response to acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *Acta Medica.* 2001a;44(4):149-151.

Pudil R, Pidrman V, Krejsek J et al. The effect of trimetazidine on C-reactive protein, cytokines and adhesion molecules in the course of acute myocardial infarction. *Acta Médica.* 2001b;44(4):135-140.

Quantiers JM, Leruth J, Albert A et al. Comparison of inflammatory responses after off-pump and on-pump coronary surgery using surface modifying additives circuit. *Ann Thorac Surg.* 2006;81:1683-1690.

Raivio P, Fernández JA, Kuitunen A. Et al. Activation of protein C and hemodynamic recovery after coronary artery bypass surgery. 2007; *J Thorac Cardiovasc Surg*;133:44-51.

Ramos AM, Pellanda LC, Gus et al. Marcadores inflamatórios da doença cardiovascular em idosos. *Arq Bras cardiol.* 2009;92(3):233-240.

Ranucci M. The endothelial function in cardiac surgery. *Minerva Anesthesiol.* 2006;72(6):503-506.

Ratajczak J, Wysoczynski M, Machalinski B et al. Complement cascade cleavage fragments-C3a and C5a anaphylatoxins- as new unexpected hypoxia-related stimulators of erythropoiesis. *Leukemia.* 2007;21:973-982.

Reeves RC, Evanochko WT, Candy RC et al. Demonstration of increased myocardial lipid with postischemic dismutase ("myocardial stunning") by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J Am Coll Cardiol.* 1989;13:739-44.

Renauld JF. Internal pH, Na⁺ and Ca⁺⁺ regulation by trimetazidine during cardiac cell acidosis. *Cardiovasc Drugs Ther.* 1988;1:677-86.

Riddington DW, Venkatesh B, Boivin CM et al. Intestinal permeability, gastric intramucosal ph, and systemic endotoxemia in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *JAMA.* 1996;275(13):1007-1012.

Rocke DA, Gaffin SL, Well MT et al. Endotoxemia associated with cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1987;93:832-837.

Rosenkrantz ER, Buckberg GD, Laks H. Warm induction of cardioplegia with glutamate-enriched blood in coronary patients with cardiogenic shock who are dependent on inotropic drugs and intra-aortic balloon support. *J thorac Cardiovasc Surg.* 1983;86:507-518.

Royer RJ. Etude pharmacocinétique de la trimetazidine chez l'homme après administration unique de 40mg par voie IV et orale en comprimés et en gouttes. Internal report 1986.

Ruixing Y, Wenwu L, Ghazali AR. Trimetazidine inhibits cardiomyocyte apoptosis in a rabbit model of ischemia-reperfusion. *Transla Research.* 2007;149:152-60.

Ruiz-Meana M, García-Dorado D, González MA et al. Efecto del edema osmótico durante la reoxigenación sobre la viabilidad celular. Estudio em el miocito aislado. *Rev Esp Cardiol*. 1995;48:266-71.

Saatvedt K, Lindberg H, Michelsen S et al. Activation of the fibrinolytic, coagulation and plasma kallikrein-kinin systems during and after open heart surgery in children. *Scand J Clin Lab Invest*. 1995;55(4):359-367.

Sainz IM, Pixley RA, and Colman RW. Fifty years of research on the plasma kallikrein-kinin system: from protein structure and function to cell biology and in-vivo pathophysiology. *Thromb Haemost*. 2007;98:77-83.

Santander FMS, Márquez FM, Sánchez OR et al. Dano miocárdico por reperusión. *Rev Esp Cardiol*. 2004;57(Suppl 1):9-21.

Santos BW, Mesquita ET, Vieira RMR et al. Proteína-C-reativa e doença cardiovascular. As bases da evidência científica. *Arq Bras cardiol*. 2003;80(4):452-456.

Savaris N, polanczyk C e Clausell N. Cytokines and troponin-I in cardiac disfunction after coronary artery grafting with cardiopulmonary bypass. *Arq Bras Cardiol*. 2001;77(2):114-119.

Sawa Y, Shimazaki Y, Kadoba K et al. Attenuation of cardiopulmonary bypass-derived inflammatory reactions reduces myocardial reperfusion injury in cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1996;111:29-35.

Schelbert R; Buxton, D. Insights into coronary artery disease gained from metabolic imaging. *Circulation*. 1988;78:496-505.

Schmid-Schonbein GW. Capillary plugging by granulocytes and the no-reflow phenomenon in the microcirculation. *Fed Proc*. 1987;15;46(7):2397-2401.

Schraufstatter IU, DiScipio RG, Zhao M et al. C3a and C5a are chemotactic factors for human mesenchymal stem cells, which cause prolonged ERK1/2 phosphorylation. *The Journal of Immunology*. 2009;182:3827-3836.

Schulz R, Wambolot R. Inhibition of nitric oxide synthesis protects the isolated working rabbit heart from ischaemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 1995;30(3):432-9.

Schwartz GG, Schaefer S, Meyerhoff DJ et al. Dynamic relation between myocardial dismutase and energy metabolism during and following brief coronary occlusion in the pig. *Circ Res*. 1990;67:490-500.

Seghaye M.C.; Duchateau J.; Grabitz et al. Complement activation during cardiopulmonary bypass in infants and children: relation to postoperative multiple system organ failure. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1993;106: 978–87.

Sentex E, Sergiel PJ, Lucien A et al. Is the cytoprotective effect of trimetazidine associated with lipid metabolism? *Am J Cardiol*. 1998;82(Suppl 1):18K-24.

Serrano JR CV, Souza JA, Lopes NH et al. Reduced expression of systemic and myocardial biomarkers after off-pump versus on-pump coronary artery bypass surgery: a prospective randomized study. *Journal of Critical Care*. 2010;25:305-312.

Shahzad GR. Pump or no pump for coronary artery bypass. *Tex Heart Inst J*. 2005;32:489-501.

Sharma M, Ganguly NK, Chaturvedi G et al. Release of pro-inflammatory mediators during myocardial ischemia/reperfusion in coronary artery bypass graft surgery. *Mol and Cel Biochemistry*. 2003;247:23-30.

Shernan SK. Perioperative myocardial ischemia reperfusion injury. *Anesthesiology Clin N Am*. 2003;21:465-485.

Singh HP, Coleman ET, Hargrove M et al. Prostacyclin and thromboxane levels in pleural space fluid during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 1995;59:647-650.

Sodi-Pallarés D, Testelli MR, Fishleder BI et al. Effects of intravenous infusion of a potassium-glucose-insulin solution on the electrocardiographic signs of myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 1962;9:166-81.

Soei LK, Sassen LMA, Fam DS et al. Miofibrillar Ca⁺⁺ sensitization predominantly enhances function and mechanical efficiency of stunned myocardium. *Circulation*. 1994;90:959-69.

Stangl V, Baumann G, Stangl K et al. Negative inotropic mediators released from the heart after myocardial ischaemia-reperfusion. *Cardiovasc Res*. 2002; 53:12-30.

Stibbe J, Kluft C, Brommer EJ et al. Enhanced fibrinolytic activity during cardiopulmonary bypass in open-heart surgery in man is caused by extrinsic plasminogen activator. *Eur J Clin Invest*. 1984;14(5): 375-382.

Strüber M, Cremer JT, Gohrbandt B et al. Human cytokine responses to coronary artery bypass grafting with and without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 1999;68:1330-1335.

Suwa T, Hogg JC, English D et al. Interleukin-6 induces demargination of intravascular neutrophils and shortens their transit in marrow. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;279:H2954-H2960.

Tabuchi N, Haan J, Boonstra PW et al. Activation of fibrinolysis in the pericardial cavity during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1993;106:828-833.

Taegtmeyer H, King L, Jones B. Energy substrate metabolism, myocardial ischemia, and targets for pharmacotherapy. *Am J Cardiol*. 1998;2:54K-111.

Taggart DP, Sundaram S, McCartney C et al. Endotoxemia, complement, and white blood cell activation in cardiac surgery: a randomized trial of laxatives and pulsatile perfusion. *Ann Thorac Surg*. 1994;57:376-382.

Taggart DP. Biochemical assessment of myocardial injury after cardiac surgery: effects of a platelet activating factor antagonist, bilateral internal thoracic artery grafts, and coronary endarterectomy. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2000;120:651-659.

Takagi H, Matsui M and Takuda U. Off-pump coronary artery bypass may increase late mortality: A meta-analysis of randomized trials. *Ann Thorac Surg.* 2010;89:1881-8.

Takatsuki F, Okano A, Suzuki C et al. Interleukin 6 perfusion stimulates reconstitution of the immune and hematopoietic systems after 5-fluorouracil treatment. *Cancer Research.* 1990;50:2885-2890.

Tárnok A, Hamsch J, Emmrich F et al. Complement activation, cytokines, and adhesion molecules in children undergoing cardiac surgery with or without cardiopulmonary bypass. *Pediatric Cardiol.* 1999;20:113-125.

Tavares-Murta BM, Cordeiro AO, Murta EFC et al. Effect of myocardial protection and perfusion temperature on production of cytokines and nitric oxide during coronary bypass. *Acta Cir Bras.* 2007;22(4):243-250.

Tennenberg SD, Clardy CW, Bailey WW et al. Complement activation and lung permeability during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1990;50:597-601.

Tepliakov AT, Dzhabadova GK, Akhemedov SD et al. Effect of trimetazidine on ischemic dysfunction of myocardium after coronary bypass surgery on beating heart. *Kardiologija.* 2004;44(4):51-6.

Tonnesen E, Christensen VB, Toft P. The role of cytokines in cardiac surgery. *Intern J Cardiol.* 1996;53:S1-S10.

Tritto I, Wang P, Kuppusamy P et al. The anti-anginal drug trimetazidine reduces neutrophil-mediated cardiac reperfusion injury. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2005; 46:89-98. Bg

Turnerir B, Colak O, Alatas O et al. Measurement of troponin T to detect cardioprotective effect of trimetazidine during coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg.* 1999;68:2173-6.

Utoh J, Yamamoto T, kambara T et al. Complement conversion and leukocyte kinetics in open heart surgery. *Jpn J Surg.* 1988;18(3):259-267.

Valen G, Blomback M, Sellei P et al. Release of von Willebrand factor by cardiopulmonary bypass, but not by cardioplegia in open heart surgery. *Tromb Research.* 1994;73(1):1-84.

Vanoverschelde JLJ, Janier MF, Bakke JE et al. Rate of glycolysis during ischemia determines extent of ischemic injury and functional recovery after reperfusion. *Am J Physiol.* 1994; 264:H1785-94.

Velthuis H, Jansen PG, Oudemans-vans Straaten HM et al. Myocardial performance in elderly patients after cardiopulmonary bypass is suppressed by tumour necrosis factor. *J Cardiothorac Cardiovasc Surg.* 1995; 110: 1663–1669.

Vendrinne JM, Vedrinne C, Bompard D et al. Myocardial protection during coronary artery bypass graft surgery: a randomized, double-blind, placebo-controlled study with trimetazidine. *Anesth Analg*. 1996;82:712-8.

Vermeiren GLJ, Claeys MJ, Bockstaele DV et al. Reperfusion injury after focal myocardial ischaemia: polymorphonuclear leukocyte activation and its clinical implications. *Resuscitation*. 2000;45:35-61.

Verrier ED, Shernan SK, Taylor KM et al. terminal complement blockade with pexelizumab during coronary artery bypass graft surgery requiring cardiopulmonary bypass. *JAMA*. 2004;291:2319-2327.

Walker JB and Nesheim ME. The molecular weights, mass distribution, chain composition, and structure of soluble fibrin degradation products release from a fibrin clot perfused with plasmin. *J Biol Chem*. 1999;274;8(Issue 19):5201-5212.

Walport MJ. Advances in immunology: complement. *N Eng J Med*. 2001;344(15):1140-1144.

Wan S, Desmet JM, Barvais L et al. Myocardium is a major source of proinflammatory cytokines in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1996;112:806-11.

Wan S, Izzat MB, Lee TW et al. Avoiding cardiopulmonary bypass in multivessel CABG reduces cytokine response and myocardial injury. *Ann Thorac Surg* 1999a;68:52-57.

Wan S, LeClerc JL, and Vincent JL. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass mechanisms involved and possible therapeutic strategies. *Chest* 1997;112:676-692.

Wan S, Yim APC. Cytokines in myocardial injury: impact on cardiac surgical approach. *Eur J Cardio-Thorac Surgery*. 1999b;16(suppl 1):S107-111.

Warren OJ, Smith AJ, Alexiou C et al. The inflammatory response to cardiopulmonary bypass: Part 1- Mechanisms of pathogenesis. *Journ Cardiothorac Vasc Anaesth*. 2009; 23(2):223-231.

Warren OJ, Watret AL, Wit KL et al. The inflammatory response to cardiopulmonary bypass: Part 2-Anti-inflammatory therapeutic strategies. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2009;23(3):384-393.

Weerasinghe A and Taylor KM. The platelet in cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 1998;66:2145-2152.

Wei M, Laurikka J, Kuukasjarvi P et al. Soluble adhesion molecules in coronary artery bypass surgery. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*. 2003;11:198-202.

Welbourn C, Golman G, Paterson IS. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg*. 1991;78:651-5.

Weyrich AS, Buerke M, Albertine KH et al. Time course of coronary vascular endothelial adhesion molecule expression during reperfusion of the ischemic feline myocardium. *Journal of Leukocyte Biology*. 1995;57:45-55.

Whitten CW, Hill GE, Ivy R et al. Does the duration of cardiopulmonary bypass or aortic cross-clamp, in the absence of blood and/or blood product administration, influence the IL-6 response to cardiac surgery? *Anesth Analg* 1998;86:28-33.

Williams FM, Tanda K, Kus M et al. Trimetazidine inhibits neutrophil accumulation after myocardial ischaemia and reperfusion in rabbits. *Journ Cardivasc Pharmacol*. 1993;22:828-833.

Williams MW, Taft CS, Ramnauth S et al. Endogenous nitric oxide (NO) protects against ischaemia-reperfusion injury in the rabbit. *Cardiovasc Res*. 1995;30(1):79-80.

Wolff A, Rotmensch H, Ferrari R et al. Metabolic approaches to the treatment of ischemic heart disease: the clinician's perspective. *Heart Failure Reviews*. 2002;7:187-203.

Young LH, Renfu Y, Russel R et al. Low-flow ischaemia leads to translocation of canine heart GLUT-4 and GLUT-1 glucose transporters to the sarcolemma in vivo. *Circulation*. 1997;95(2):415-22.

Zhu ZG, Li HH and Zhang BR. Expression of endothelin-1 and constitutional nitric oxide synthase messenger RNA in saphenous vein endothelial cells exposed to arterial flow shear stress. *Ann Thorac Surg*. 1997;64:1333-1338.

Zimmerman ANE, Hulsmann WC. Paradoxical influence of calcium ion on the permeability of cell membranes of the isolated rat heart. *Nature*. 1966;211:646-7.

Zouki C, Beauchamp M, Baron C et al. Prevention of in vitro neutrophil adhesion to endothelial cells through shedding of L-selectin by C-reactive protein and peptides derived from C-reactive protein. *J Clin Invest*. 1997;100:522-529.

Zweier LJ, Talukder AM. The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 2006;70:181-90.

ANEXO 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nome do paciente: _____

Prontuário: _____

Título do Projeto: Efeitos da trimetazidina na resposta inflamatória em pacientes submetidos à cirurgia de revascularização do miocárdio com circulação extracorpórea.

Investigador: Dr Gerez Fernandes Martins

Local: Serviço de Pós-operatório em Cirurgia Cardíaca do Instituto Estadual de Cardiologia Aloysio de Castro.

Telefone para contato: 2286-7272 R 123. Horário de 08:00 às 16:00 H

Eu _____, abaixo assinado, declaro ter pleno conhecimento dos objetivos desta pesquisa, tendo discutido com o médico responsável pelo estudo e recebido todas as orientações. Entendi o objetivo do estudo, sabendo tratar-se de pesquisa que visa avaliar a melhora na proteção do coração durante uma cirurgia cardíaca através de medicamento de uso oral (pela boca). Sei que para isso poderei fazer uso ou não da própria medicação, já de uso comum e vendida em farmácias, que será fornecida pelo Instituto sem qualquer custo, sendo uma medicação de uso comum na cardiologia. Sei também que poderei não receber a medicação para verificação de comparação aos que dela fizeram uso e que o fato de não ser a medicação não causará dano em relação à cirurgia. Sei que serei avaliado inicialmente e posteriormente com ECOCARDIOGRAMA para verificação da função do coração, além de amostras de sangue coletadas como na rotina normal de pós-operados para efeito de medição de enzimas liberadas normalmente pelo coração, e sei também que se benefício trouxer o resultado deste estudo poderá ajudar a um número maior de pessoas.

A assistência médica não será modificada em função da aceitação ou não em participar desta pesquisa.

As informações desta pesquisa manterão seu anonimato, serão confidenciais e divulgadas apenas sob forma de publicação científica. Estou ciente de poder fazer quaisquer perguntas e me desligar do estudo a qualquer momento, e que esta pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética e Pesquisa Humana do Instituto Estadual de Cardiologia Aloysio de Castro, tendo sido aprovada.

Assinatura de Paciente _____

Assinatura do responsável (se houver) _____

Assinatura da Testemunha: _____

Eu confirmo que expliquei a natureza deste estudo para o paciente e/ou seu responsável.

Assinatura do pesquisador: _____

Data: _____

ANEXO 2

AUTORIZAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA E PESQUISA



MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Estadual de Cardiologia
Aloysio de Castro (IECD)

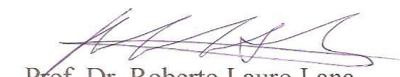
Rio de Janeiro, 10 de dezembro de 2005.

EXMO.SR. Doutor **GEREZ FERNANDES MARTINS**:

Venho pela presente informar-lhe que o projeto de pesquisa **“EFEITO DA TRIMETAZIDINA NOS MARCADORES INFLAMATÓRIOS NA INJÚRIA DE REPERFUSÃO MIOCÁRDICA EM CIRURGIA DE REVASCULARIZAÇÃO DO MIOCÁRDIO”** foi submetido e aprovado na reunião de 07 de dezembro de 2005 do Comitê de Ética em Pesquisa de nossa instituição sob o Nº 00/2005.

Tendo em vista a sua aprovação, sugerimos que, de acordo com o cronograma, nos seja dado conhecimento da data da sua efetiva implementação no Instituto Estadual de Cardiologia Aloysio de Castro.

Esperando que seja bem sucedida a referida pesquisa, auguramos votos de êxito e enviamos nossos protestos de estima e consideração.


Prof. Dr. Roberto Lauro Lana
Coordenador do CEP do IECAC

ANEXO 3

FICHA DE OBSERVAÇÃO PRÉ E PÓS-OPERATÓRIA

FICHA DE CADASTRO INDIVIDUAL		No:
NOME:	PRONTUARIO:	
IDADE:	SEXO:	
DATA DA CIRURGIA:		
ENDEREÇO:		
TELEFONE:		

AVALIAÇÃO PRÉ OPERATORIA

CORONARIOGRAFIA:		
PROPOSTA CIRURGICA:		
CONCLUSÃO CIRURGICA:		
TEMPO DE CEC:	ANÓXIA:	BATIMENTOS CARGA: EXPONTÂNEO:
ECOCARDIOGRAMA PRÉ OPERATÓRIO:		

PÓS OPERATÓRIO CONTROLE:

INTERCORRÊNCIAS:
DROGAS:
ENZIMAS:
ECG:
DRENAGEM:
TEMPO DE DRENO:
TEMPO DE TOT:
ALTERAÇÃO TAP:
ALTERAÇÃO PTT:
PLAQUETAS:
GASOMETRIA DE CHEGADA:
ECOCARDIOGRAMA POS OPERATÓRIO: INTERVALO:

ANEXO 4

FICHA DE CONTROLE DA DROGA

FICHA TERAPÊUTICA

PACIENTE:

PRONTUÁRIO:

DROGA:

POSOLOGIA:

INÍCIO:

TÉRMINO:

PARAEFEITOS:

QUEIXAS:

OBSERVAÇÕES:

Pesquisador

ANEXO 5

FICHA ECOCARDIOGRÁFICA DE AVALIAÇÃO SEGMENTAR

PROJETO TRIMETAZIDINA

DO() Dia da Cirurg () Pós op ()

NOME:

PRONTUARIO:

ANALISE SEGMENTAR NO MODELO DE 17 SEGMENTOS

	Normal= 1	Hipocinesia=2	Acinesia=3	Discinesia=4	Aneurisma=5	
REGIÕES & SEGMENTOS	ANTERIOR	ANTERO SEPTAL	INFERO SEPTAL	ANTERO LATERAL	INFERO LATERAL	INFERIOR
BASAL	1	2	3	6	5	4
MEDIAL	7	8	9	12	11	10
APICAL	13	Apical Septal 14		Apical Lateral 16		15
SCORE	APEX (APICE) 17					

Índice de Contractilidade Segmentar(ICS) ou Score Médio de Pontos

Score Médio de Pontos= Pontuação encontrada dividido pelo total dos 17 segmentos analisados

Resultado do Índice de Contractilidade Segmentar(ICS) ou Score Médio de Pontos

O Valor Normal do ICS é 1.

Valores do ICS entre 1,1 a 1,6 indica disfunção ventricular Leve

Valores do ICS entre 1,61 a 2,0 indica disfunção ventricular Moderada

Valores do ICS acima de 2,0 indica disfunção ventricular Grave

VALOR DA SOMA () DISFUNÇÃO.....

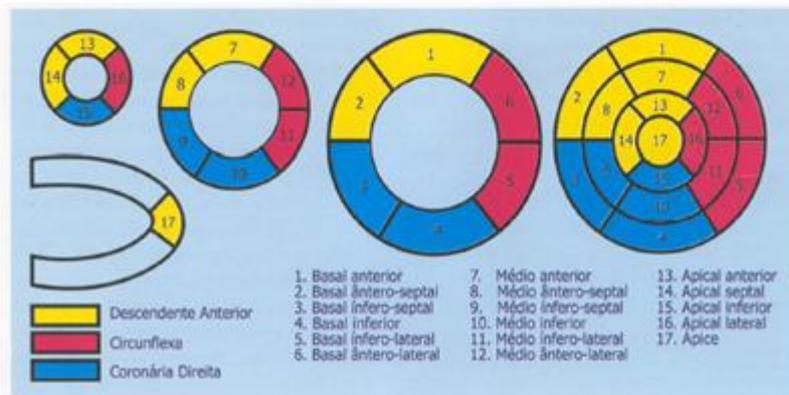


Figura 8.11: Representação em alvo (bull's eye) da segmentação miocárdica do ventrículo esquerdo, nomenclatura e relação de irrigação coronariana mais comum, de acordo com publicação da American Heart Association em 2002¹.

ANEXO 6

FICHA DE CONTROLE LABORATORIAL

INSTITUTO DE CARDIOLOGIA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
PROJETO DE ESTUDO COM TRIMETAZIDINA EM CRVM-CEC

Nome: _____ Matrícula: _____

Frasco: _____ Data: _____

ANÁLISE LEUCÓCITOS

	Pré operat	5 min	12 h após	24 h após	48h após
Leucocito					
Neutrófilo					
Monócito					

ANÁLISE DA CURVA DE MARCADOR INFLAMATÓRIO

<u>TNFa</u>	Pré-operatório	5 min	12 h após	24 h após
IL6				
IL8				
C3				
C5				
	Pré-operatório			48 h após
PCR-u				

Pesquisador