

## Lesão de Isquemia-Reperfusão. Aspectos Fisiopatológicos e a Importância da Função Endotelial

Paulo Roberto B. Evora, Paul J. Pearson, John F. Seccombe, Hartzell V. Schaff  
Ribeirão Preto, SP - Rochester - MN, USA

A lesão de reperfusão é um termo usado para descrever as alterações, funcionais e estruturais, que se tornam aparentes durante o restabelecimento do fluxo após um período de isquemia. Em adição à reversão da isquemia, a restauração do fluxo sanguíneo pode resultar em um número de efeitos deletérios: necrose de células irreversivelmente lesadas, acentuado edema celular (*cell swelling*) e restauração não uniforme do fluxo para todas as porções do tecido. Esta restauração caótica do fluxo tissular é conhecida como fenômeno do não refluxo (*no reflow phenomenon*), que é o resultado de um círculo vicioso de disfunção endotelial vascular, redução da perfusão local, mais alterações disfuncionais, mais edema etc.

Os distúrbios metabólicos durante isquemia ou hipóxia tissular são muito bem estabelecidos, porém evidências clínicas e experimentais demonstram que os principais eventos que levam a disfunções celular e tecidual relacionam-se com a subsequente reperfusão.

Quando o fluxo sanguíneo tissular é interrompido, uma série de processos metabólicos e enzimáticos são afetados. As reservas de ATP são rapidamente depletadas, há um acúmulo de lactato, a célula torna-se acidótica e são ativadas proteases intracelulares<sup>1</sup>. Além disso, o aumento da permeabilidade capilar causa edema tissular<sup>2</sup>. Porque a reversibilidade deste processo relaciona-se diretamente com a duração da isquemia<sup>3</sup>, o objetivo terapêutico principal é restabelecer a reperfusão o mais rápido possível. Embora o benefício da reperfusão precoce seja inquestionável, a reintrodução do oxigênio em um meio isquêmico inicia uma corrente complexa de eventos levando a lesões tissulares adicionais e a um acúmulo intracelular de cálcio<sup>4,5</sup>.

Muito se tem estudado nos últimos 35 anos para se definir a patogênese da lesão de reperfusão. Estes estudos incluem investigações laboratoriais, observações clínicas e grandes ensaios clínicos. Teorias atuais tentam integrar três observações básicas: 1) o comprometimento do relaxamento vascular observado após isquemia-reperfusão afeta, primariamente, os relaxamentos vasculares dependentes

do endotélio; 2) seqüestradores (*scavengers*) de radicais livres do oxigênio limitam a lesão de reperfusão, e 3) o bloqueio da ativação e adesão dos neutrófilos podem reduzir a lesão de reperfusão<sup>6</sup>.

Este texto tem a finalidade de revisar os principais aspectos da lesão de isquemia-reperfusão, apresentando os principais mecanismos de sua fisiopatologia. Primeiramente, os conceitos iniciais embasados nos “paradoxos” do cálcio e do oxigênio e, em seqüência, os papéis dos radicais livres, a disfunção do endotélio vascular, incluindo o papel cada vez mais destacado das G-proteínas, e a lesão mediada por neutrófilos. Após um resumo das possibilidades de modificação da lesão de isquemia-reperfusão, conclui-se com uma integração dos conceitos em tentativa de destacar a importância da disfunção endotelial e a relevância clínica do problema. A sua pertinência está associada, não só à importância e atualidade do tema, mas também, na dificuldade de se encontrar artigos em língua portuguesa.

### Mecanismos da lesão de isquemia-reperfusão

**Paradoxos do cálcio e do oxigênio** - A lesão de isquemia-reperfusão, em um passado recente, foi relacionada, classicamente, a dois fenômenos: o paradoxo do cálcio e o paradoxo do oxigênio. Estes dois fenômenos apresentam distúrbios patológicos semelhantes (lesão de reperfusão, acúmulo do cálcio intracelular e um mesmo tipo de lesão celular) e podem estar relacionados entre si.

O paradoxo do cálcio foi inicialmente observado após um período de perfusão de corações de ratos com uma solução que não continha este íon. Ao se reperfundir os corações, restaurando-se o cálcio, estes perdiam a contratilidade, resultando uma extensa lesão miocárdica. Os mecanismos do paradoxo do cálcio não são bem conhecidos, mas após a reperfusão há um maciço influxo de cálcio para dentro da célula, provavelmente por alteração da permeabilidade de membrana. A lesão de reperfusão é proporcional ao tempo de perfusão isenta de cálcio mas já é evidente após 3 min. As lesões iniciais ocorrem na mitocôndria e no sarcolema com subsequente aparecimento de características bandas de contratura<sup>7</sup>.

O paradoxo do oxigênio foi constatado quando se observou que a reperfusão com solução oxigenada, após período de hipóxia miocárdica, resultou em significante lesão maior do que a recuperação, com contratura, sobrecarga de cálcio e necrose celular. A reoxigenação causa lesão do sarcolema, da membrana basal, desorganização mitocondrial e outras alterações tissulares, indicando que a reintrodução do oxigênio inicia um rápido e grave proces-

Division of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Mayo Clinic and Foundation - Rochester, Centro Especializado do Coração e Pulmão de Ribeirão Preto e Departamento de Cirurgia, Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Correspondência. - Paulo Roberto B. Evora - Rua Rui Barbosa, 455/140 - 14015-120 - Ribeirão Preto, SP

Recebido para publicação em 21/8/95

Aceito em 6/2/96

so de lesão celular. Consideráveis informações têm sido acumuladas mostrando que este efeito paradoxal da reoxigenação se deva às ações de radicais livres do oxigênio<sup>7</sup>. O papel central destes radicais na lesão de reperfusão tem sido demonstrado por vários investigadores.

**Radicais livres** - Não é o objetivo deste texto descrever com detalhes a geração dos radicais livres do oxigênio que se encontra representada na figura 1. Os radicais livres são lesivos através de uma variedade de mecanismos: 1) peroxidação dos ácidos graxos das membranas celulares; 2) oxidação de grupos sulfidríla inativando uma variedade de enzimas; 3) alterações do DNA inibindo a síntese de ATP e consumindo as reservas de dinucleotídeos adenínicos da nicotinamida; 4) direta inativação do óxido nítrico (NO) comprometendo os relaxamentos vasculares dependentes do endotélio; 5) formação de peroxinitrito, um ânion instável e tóxico, reagindo com o NO; 6) ativação de citocinas como a interleucina-1. Dentro da luz de vasos reperfundidos os ânions superóxidos estimulam a agregação plaquetária e iniciam a liberação de variados fatores vasoconstritores, incluindo o ADP, o PAF, a serotonina e o tromboxane A<sub>2</sub><sup>6</sup>.

**Lesão de isquemia-reperfusão e disfunção endotelial** - O endotélio é o tecido mais vulnerável à reperfusão e exibe disfunção mesmo antes da musculatura lisa vascular ou expressa lesão miocárdica<sup>8</sup>.

A hipótese de que a disfunção endotelial possa ser a causa do aumento do tono vascular e vasoespasmo após isquemia e reperfusão encontra-se representada na figura 2. Sabe-se que o comprometimento da liberação do EDRF/NO, em particular devido à agregação plaquetária, ocorre precoce e tardiamente após isquemia regional e reperfusão<sup>9,10</sup>. Mesmo artérias reperfundidas com endotélio exibem hipercontratibilidade a plaquetas agregadas. Isto ocorre ao

mesmo tempo em que a função da musculatura lisa vascular (habilidade de contrair ou relaxar) mantém-se inalterada<sup>9</sup>. A disfunção endotelial também ocorre durante isquemia global e reperfusão com alteração do fluxo coronariano dependente do endotélio e diminuição da produção de prostaciclina após reperfusão<sup>11</sup>.

Estudos histológicos demonstram lesão endotelial como consequência de isquemia e reperfusão<sup>12</sup>. Lesão endotelial e comprometimento da liberação de EDRF e prostaciclina podem levar a aumento da adesividade e agregação plaquetárias, superpostas à ação direta de vasoconstritores liberados pelas plaquetas na musculatura lisa vascular com consequente vasoespasmo. Além disso, ocorre deposição plaquetária em artérias coronarianas após isquemia cardíaca global e reperfusão<sup>13</sup>. Existe *in vivo* uma correlação direta entre vasoconstrição local e a quantidade de plaquetas depositadas na artéria coronária lesada por trauma<sup>14</sup>.

É também possível que a vasoconstrição dependente do endotélio, que ocorre após reperfusão coronariana, possa contribuir para o aumento do tono vascular observado após parada cardíaca. Após isquemia regional e reperfusão, precoce e tardiamente, o endotélio coronariano apresenta vasoconstrição hipóxica dependente do endotélio<sup>15,16</sup>. Contração dependente do endotélio potenciada pela hipóxia também é observada em um período precoce após isquemia global e reperfusão<sup>17</sup>. Um aumento da produção de fatores constritores dependentes do endotélio ocorre, também, após lesão traumática da camada íntima vascular<sup>18</sup>. O provável mediador desta atividade vascular exacerbada é o ânion superóxido produzido pelo endotélio<sup>19</sup>.

O conceito de que mecanismos vasculares locais podem induzir e manter a vasoconstrição é perfeitamente clara em casos descritos de vasoespasmo presentes em corações transplantados totalmente desnervados<sup>20</sup>. Em adição, se a disfunção endotelial durante a isquemia cardíaca global é tempo dependente como a lesão da célula miocárdica,

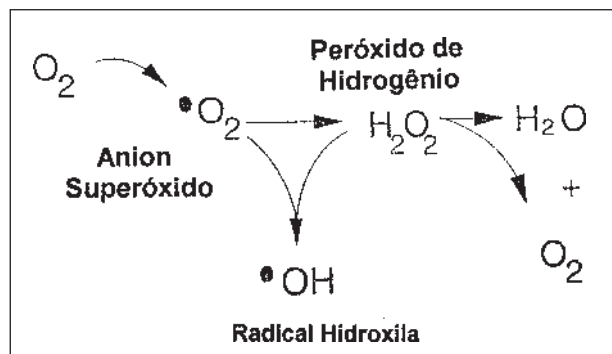


Fig. 1 - Formação dos radicais livres do oxigênio. O oxigênio molecular (O<sub>2</sub>) pode ser convertido no ânion superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) por fotólise ou pela ação de várias enzimas celulares como a xantina oxidase. O ânion superóxido liga-se espontaneamente a prótons para formar o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). O radical hidroxila altamente oxidante (OH<sup>•</sup>) pode ser gerado de cada peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ou ânion superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>). Este esquema é uma simplificação, não considerando as constantes de velocidade da reação de formação do radical hidroxila a partir de superóxido e peróxido de hidrogênio, que são muito baixas e provavelmente sem importância biológica. Ao invés da reação direta entre as duas espécies, o radical hidroxila forma-se em velocidade bem maior pela redução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a partir de elétron fornecido por íons metálicos (Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>), que é a chamada reação de Fenton.

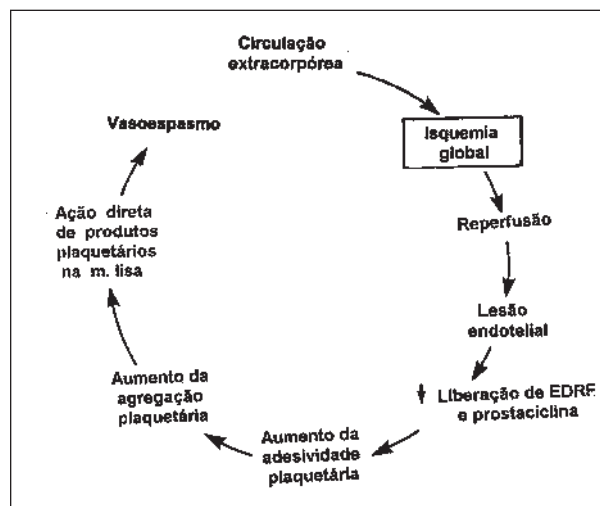


Fig. 2 - Esquema representando a teoria da disfunção endotelial após isquemia-reperfusão. Teoria dos autores para explicar os efeitos após isquemia global e reperfusão causadas pela circulação extracorpórea (reproduzido de Evora e col. Arq Bras Cardiol 1993; 61: 119-25).

isto pode explicar o aumento da incidência de infarto do miocárdio com o aumento do tempo de clampeamento aórtico em cirurgias cardíacas<sup>21,22</sup>.

A função endotelial após isquemia-reperfusão é já bastante estudada na circulação coronariana. Após isquemia miocárdica global seguida de perfusão, o sistema coronariano epicárdico perde a habilidade de expressar vasodilatação dependente do endotélio a mediadores, que atuam a nível de receptores, ao passo que o relaxamento dependente do endotélio mediado pelo ionóforo do cálcio (A23187), que não depende de estimulação de receptores, encontra-se inalterado. Em adição, a vasodilatação dependente do endotélio produzida pela fosfolipase C exógena, também é normal, mas o relaxamento produzido pelo fluoreto de sódio, o qual atua através de G-proteína(s) sensível à toxina pertussis, encontra-se comprometido. Estes dados indicam que o comprometimento da produção de EDRF/NO mediada por receptores após a lesão de perfusão possa ser devida a uma disfunção de G-proteínas que liga os receptores da célula endotelial à via da síntese de EDRF/NO (fig. 3)<sup>6,23</sup>.

É provável que os mecanismos acima descritos para a circulação coronariana sejam semelhantes em circulações de outros órgãos, mas estas constatações necessitam ainda de verificação experimental.

**Lesão de perfusão mediada por neutrófilos** - O neutrófilo tem sido implicado como um mediador central da lesão tissular em, virtualmente, todo sistema orgânico susceptível à lesão de perfusão<sup>6</sup>. Certamente, esta célula sanguínea participa de uma série de mecanismos que são capazes de causar grave destruição tissular. No entanto,

tem sido muito difícil demonstrar um papel causal direto para o neutrófilo na lesão de perfusão. É possível que neutrófilos ativados estejam presentes em tecidos reperfundidos, como uma resposta celular, normal e inespecífica, causada pelos variados tipos de lesão endotelial. Existem evidências experimentais de que a ação dos neutrófilos não seja uma condição *sine qua non* para a lesão de perfusão, uma vez que em períodos curtos de perfusão (20min ou menos), quando já existe disfunção endotelial, não se observa nenhum acúmulo de neutrófilos ou ruptura endotelial<sup>24</sup>. Acresça-se o fato que a lesão de perfusão foi comprovada em corações isolados perfundidos com soluções tampões cristalóides livres de qualquer elemento sanguíneo<sup>25</sup>. Embora um papel central dos neutrófilos na lesão de perfusão seja questionado, é importante reconhecer a sua significativa contribuição para a patogênese deste processo<sup>26</sup>.

Uma vez ligados à superfície endotelial, os neutrófilos aceleram a disfunção destas células e destruição tissular através de uma variedade de mecanismos citotóxicos. Além disso, ocluindo capilares e pequenas arteríolas, os neutrófilos ativados liberam uma série de substâncias incluindo: radicais livres do oxigênio, enzimas citotóxicas e citocinas. Muitas destas substâncias também recrutam leucócitos adicionais e aumentam a sua adesividade ao endotélio vascular. Estes eventos não são restritos à superfície endotelial. Com o agravamento da lesão, os neutrófilos infiltram os tecidos onde enzimas e radicais do oxigênio podem causar lesão tecidual.

**Inflamação, trombose e fatores de crescimento** - Estes são processos biológicos que podem influenciar o processo de isquemia-reperfusão. O endotélio pode regular a localização de linfócitos e monócitos dentro dos vasos sanguíneos através de variados mecanismos demonstrados laboratorialmente: molécula de adesão da célula vascular-1 (VCAM-1), proteínas quimiotáticas em resposta a estresses metabólicos, além de citocinas inflamatórias (TNF, IL-1, IFN-gama). Assim, o endotélio pode ser o ponto focal do início e propagação de respostas inflamatórias. A atividade clínica da doença isquêmica coronariana pode estar relacionada com a auto-perpetuação da natureza da resposta inflamatória orquestrada pelo endotélio. Além disso, o endotélio pode se tornar pró-trombogênico ou menos anti-trombogênico quando exposto a mecanismos inflamatórios e pelo comprometimento da liberação de prostaciclina, NO e fator tissular ativador do plasminogênio<sup>27</sup>.

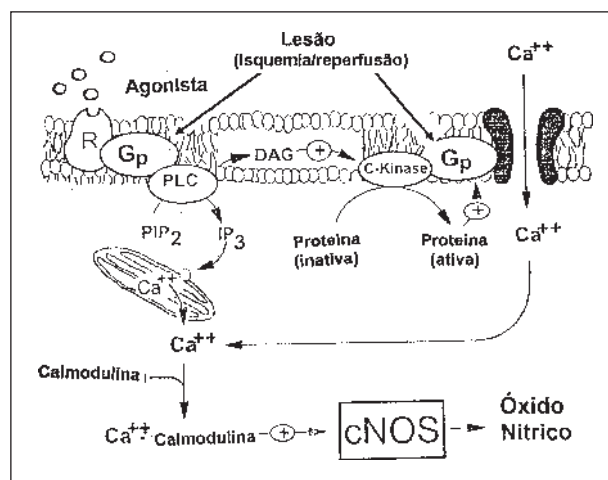


Fig. 3 - Mecanismo proposto para o comprometimento da vasodilatação dependente do endotélio após lesão de perfusão coronariana. Após a perfusão, radicais livres liberados de variadas fontes induzem lesão de G-proteínas que correspondem ao sistema de transdução do sinal para os processos intracelulares. Existem dois locais que podem ser comprometidos pela perfusão: a via de transdução do sinal entre o receptor (R) e a fosfolipase C (PLC) e a via que ativa o influxo extracelular de cálcio para manter a produção de óxido nítrico (NO). DAG- diacilglicerol; IP<sub>3</sub>- inositol trifosfato; PIP<sub>2</sub>- fosfatidilinositol 4,5 bifosfato; cNOS- óxido nítrico sintetase constitutiva; (-)= inibição; (+)= estímulo (adaptação de Evora e col. Ann Thorac Surg 1994; 57: 1550-6).

**Modificação da lesão de isquemia-reperfusão** - Alguns mecanismos da lesão de perfusão, já foram citados anteriormente: 1) o paradoxo do oxigênio responsabilizado pela produção de seus radicais livres; 2) o paradoxo do cálcio com grande influxo celular deste íon; 3) disfunção endotelial com comprometimento do tono vascular, e 4) ativação e adesão de neutrófilos.

O processo bioquímico normal dentro das células metabolicamente ativas resulta na formação de radicais livres do oxigênio. Para se proteger dos efeitos adversos destes produtos metabólicos, as células produzem uma variedade de seqüestradores e antioxidantes tais como: glutatona, glutatona peroxidase, catalase e a superóxido dismutase. Portanto, tais elementos e o manitol podem atuar no processo de prevenção e tratamento da lesão de reperusão. Embora muito da ação do manitol na isquemia miocárdica se deva ao seu efeito osmótico, é importante ressaltar a sua ação como seqüestrador de radicais hidroxila. A hipóxia causa a redução na concentração de antioxidantes endógenos e, simultaneamente, a reperusão ativa monócitos, macrófagos e neutrófilos levando a um aumento da produção e liberação dos radicais livres do oxigênio. De maneira semelhante, a xantina oxidase endotelial, a ciclooxigenase, a lipoxigenase, a mitocôndria, o retículo sarcoplasmático e a auto-oxidação das catecolaminas, fornecem fontes adicionais de radicais livres. Assim, em teoria, o bloqueio das reações desencadeadas por estes elementos poderia ter um papel na modificação da lesão de reperusão. O bloqueio da xantina oxidase pelo alopurinol tem sido testado, experimental e clinicamente, com esta finalidade.

Existem evidências de que os antagonistas do cálcio, como o verapamil e o diltiazem, possam prevenir ou diminuir as conseqüências da lesão de reperusão por diminuição do influxo celular do cálcio. A habilidade da amilodipina em limitar a lesão da célula endotelial pode estar relacionada com a diminuição da formação do íon peroxinitrito. Além disso, a via comum da NO sintetase envolve a formação de complexos cálcio-calmodulina. Assim, bloqueando-se a entrada do cálcio extracelular, a amilodipina pode diminuir a formação destes complexos, interferindo na liberação do NO que em um meio rico em ânions superóxidos pode limitar a formação do íon tóxico peroxinitrito, limitando a lesão tissular<sup>28</sup>.

A modificação da lesão de reperusão relacionada com os neutrófilos é motivo de grandes controvérsias. Modelos experimentais utilizando músculo esquelético, sugerem que a depleção de neutrófilos reduz a severidade da lesão de reperusão<sup>29</sup>. É preciso, entretanto, ressaltar que a depleção neutrofilica nunca foi demonstrada como uma maneira de prevenção da lesão de reperusão, somente diminui a sua severidade. A impossibilidade dos seqüestradores de radicais livres em reverter a lesão mediada por neutrófilos sugere outros mecanismos para a sua citotoxicidade<sup>30,31</sup>. Além de radicais livres do oxigênio e proteases, os neutrófilos liberam citocinas, como a interleucina-1 e o fator de necrose tumoral<sup>32</sup>. Existem evidências experimentais de que o bloqueio da aderência neutrofilica, utilizando-se anticorpos monoclonais, possa ser benéfica por reduzir o acúmulo de neutrófilos que se segue à isquemia-reperusão. Entretanto, os trabalhos nesta área, que estudam a eficácia da limitação do acúmulo de neutrófilos, são extremamente conflitantes<sup>33,34</sup>.

Outros métodos de modificação da lesão de isquemia-reperusão menos citados incluem a inibição da síntese de prostaglandinas por vários antiinflamatórios não esteróides e as tentativas de preservação da função mitocondrial com a carnitina e fosfatidilcolina. Um outro processo intracelular emergente como importante na fisiopatologia da lesão de isquemia-reperusão no coração é a troca Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>, a qual levaria a alterações intracelulares, incluindo a elevação da síntese de prostaglandinas e elevação do cálcio intracelular. Assim, inibidores da troca Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>, como a amilorida, poderiam ter um papel na modificação da lesão de isquemia-reperusão. Restaria mencionar a possibilidade não farmacológica de proteção do miocárdio reperfundido pela indução das chamadas proteínas do estresse ou proteínas do choque térmico (*heat shock proteins*). Este efeito obtém-se ao submeter o animal de experimentação a temperaturas em torno de 40°C e, curiosamente, só após cerca de 24h, observa-se melhora da função ventricular. O efeito benéfico da resposta ao choque térmico pode ser dependente não só das proteínas do choque térmico, mas também pela elevação do conteúdo de catalase tissular, aumentando a detoxificação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> intracelular<sup>35</sup>.

Restaria acrescentar algum comentário sobre a possibilidade da utilização de doadores de NO e da L-arginina para se tentar a modificação da lesão de isquemia-reperusão. Em modelos de isquemia regional ou infarto, investigações laboratoriais sugerem que o NO tenha um efeito cardioprotetor na isquemia-reperusão. Os potenciais mecanismos deste efeito incluem: o seqüestro de radicais livres do oxigênio, melhora da microcirculação e diminuição da interação entre leucócitos e plaquetas com o endotélio. Por outro lado, investigações recentes demonstram que a L-arginina reduz significativamente a função contrátil e a respiração mitocondrial, resultando em glicólise anaeróbia após isquemia-reperusão. Para estes estudos, utilizou-se um modelo experimental de coração isolado de coelho em condições de isquemia global normotérmica reversível. A L-arginina foi administrada imediatamente antes da isquemia e no começo da reperusão. Os resultados foram sugestivos de que a estimulação da produção de NO pela injeção exógena da L-arginina, não foi uma causa proeminente do sinergismo entre este aminoácido e a isquemia-reperusão para lesar o miocárdio. Os dados experimentais existentes na literatura são, muitas vezes conflitantes, mas sugerem que outros métodos de fornecimento de NO, que não o aumento de seu substrato L-arginina, possam ser mais efetivos para reduzir a lesão miocárdica induzida pela isquemia-reperusão<sup>36</sup>.

Analisando-se a maioria dos trabalhos publicados, pode-se notar que nem todos os estudos concluem que a via L-arginina/NO atua de forma a trazer benefícios para a lesão de isquemia-reperusão. Alguns ensaios mostram que o fornecimento de L-arginina na tentativa de fornecer substrato para a formação de NO aumenta a lesão pós-

isquêmica. Acrescente-se que investigações bloqueando a síntese de NO com um análogo da arginina diminuiu a lesão pós-isquêmica. Os mecanismos pelos quais o NO expressa efeitos deletérios já foram mencionados (formação de peroxinitrito, radicais livres, etc). Entretanto, estes efeitos deletérios podem ser dependentes dos modelos experimentais *in vitro* empregados. Consistente cardioproteção tem sido demonstrada em modelos de isquemia-reperfusão. Em adição, recentes evidências falam fortemente contra a conversão *in vivo* do peroxinitrito a radicais hidroxila, mostrando que o NO é reciclado a nitrosotióis e a NO por si só no plasma. Estes dados sugerem que a terapêutica relacionada com o NO possa ser útil na redução da lesão de isquemia-reperfusão<sup>37</sup>.

### Considerações finais

Qualquer tecido cardíaco da zona de isquemia-reperfusão é potencialmente vulnerável à lesão de perfusão. As primeiras investigações focalizaram primariamente o miócito porque é possível se estabelecer uma relação direta entre função contrátil e evolução clínica. Em anos recentes o endotélio coronariano tem se constituído no maior foco de investigação, entretanto, a matriz intracelular, a musculatura lisa dos vasos e o sistema de condução são também afetados nos experimentos sobre a lesão de perfusão. O endotélio coronariano é vulnerável aos efeitos da isquemia-reperfusão, mas há uma relativa disparidade entre as alterações microscópicas e as alterações funcionais. Estudos ultra-estruturais mostraram que alterações morfológicas estruturais do endotélio ocorrem bem mais tardiamente do que as alterações dos miócitos, o que permite a interpretação de que as células endoteliais são bem mais resistentes à isquemia do que os miócitos. Embora o endotélio ainda não tenha sido estudado tão exaustivamente quanto os miócitos, pode-se conjecturar sobre o conceito de que, também, exista o endotélio atordoado (*stunned endothelium*). Este conceito surgiu da observação de zonas de baixo fluxo (*low reflow*) em experimentos sobre a microcirculação de cães submetidos a isquemia-reperfusão, contribuindo para repetidos episódios de atordoamento do miócito devido à possibilidade da ocorrência de vasoespasmo<sup>38</sup>.

Lefer e Lefer propuseram um mecanismo para explicar a patogênese da lesão miocárdica de perfusão. Ela integra a maioria dos conceitos apresentados nesta revisão, os quais sugerem, fortemente que o comprometimento da produção de NO é “um evento essencial precoce na lesão de perfusão e contribui significativamente para a necrose da célula miocárdica e lesão cardíaca que ocorre várias horas mais tarde”. O aumento precoce da produção de radicais livres do oxigênio na isquemia e perfusão compromete seletivamente a transdução do sinal para a via da produção e liberação do NO. A pequena quantidade de NO produzida reage rapidamente na presença de altas concentrações de ânion superóxido para formar o ânion tóxico peroxinitrito.

Na ausência de NO, plaquetas e neutrófilos aderem à superfície da célula endotelial, que se torna ativada e libera fatores vasoativos (serotonina, fator ativador plaquetário - PAF, ADP, tromboxane, etc.), enzimas hidrolíticas (elastase e colagenase), e citocinas (interleucinas, fator de necrose tumoral - TNF). Isto resulta em lesão endotelial adicional e acelera o recrutamento e ativação de neutrófilos e plaquetas adicionais. As plaquetas e neutrófilos acumulados ocluem o vaso e o tecido dependente torna-se, uma vez mais, isquêmico (fig. 4)<sup>39</sup>.

Como já se mencionou na introdução deste texto, os conceitos sobre a lesão de perfusão são embasados em 35 anos de investigações laboratoriais, observações clínicas e ensaios clínicos de tratamento da perfusão. Durante o período das investigações que incluíam os paradoxos do oxigênio e do cálcio, o fenômeno da perfusão tinha relevância clínica, apenas, para os cirurgiões cardíacos, que observaram e, ainda observam, disfunções contráteis após a circulação extracorpórea. Estas observações foram responsáveis por intermináveis experimentos clínicos e laboratoriais que levaram à atual realidade sobre a proteção ao miocárdio isquêmico após isquemia global e perfusão, ressaltando-se a importância das soluções cardioplégicas. Os cardiologistas começaram a se preocupar com a relevância clínica da lesão de perfusão na década de 80, quando começaram a praticar a terapêutica de perfusão no infarto agudo do miocárdio. Popularizou-se o conceito de que a perfusão pode ter efeitos deletérios clinicamente significantes no miocárdio, a curto prazo, apesar de seu reconhecido benefício a longo prazo. Estas observações estimularam consideráveis pesquisas laboratoriais, a maioria focalizando o fenômeno do miocárdio atordoado (*stunned myocardium*). Os esforços dos investigadores foram importantes para o entendimento deste fenômeno, mas ensaios clínicos de terapêuticas potenciais para tratar ou prevenir a lesão de perfusão têm sido desapontadores<sup>38</sup>.

É pertinente, ainda, um breve comentário sobre estudos clínicos de agentes terapêuticos para a prevenção da lesão de perfusão. Estes agentes incluem, entre outros, a prostaciclina, a superóxido dismutase (SOD), o fluosol, o poloxamer 188 (*Rheoth Rx*), a adenosina e o magnésio. A prostaciclina tem uma série de efeitos sinérgicos com o NO. No estudo piloto TAMI-4, 25 pacientes foram tratados com t-PA e iloprost e, apesar de se observar uma tendência à diminuição da porcentagem de reoclusão, não se observaram dados de melhora da função ventricular. Estes fatos e os efeitos colaterais do iloprost foram insatisfatórios para a realização de ensaios maiores. A utilização da SOD em pacientes submetidos a angioplastias eletivas e de salvamento, também não mostrou vantagens clínicas, a não ser uma pequena tendência a menor ocorrência de arritmias de perfusão. No ensaio TAMI-9 o fluosol utilizado em pacientes submetidos a trombólise, também não se mostrou eficiente na redução da lesão de perfusão. O poloxamer 188 (*Rheoth Rx*), que é o maior constituinte da solução suporte para o fluosol, apresentou alguns resultados promissores

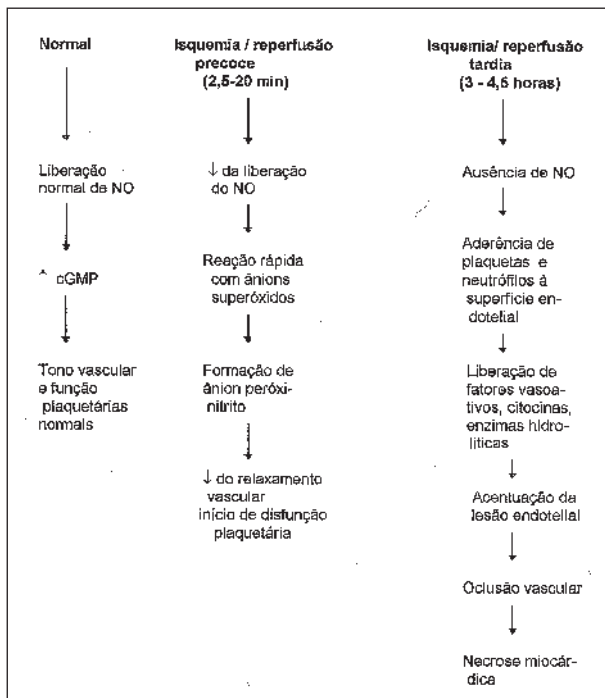


Fig. 4 - Possível mecanismo da lesão miocárdica após isquemia-reperfusão (adaptação de Lefer AM, Lefer DJ - Basic Res Cardiol 1991; 86(suppl 2): 109-16).

em pacientes submetidos a trombólise, mas não em pacientes submetidos a angioplastia. Um grande ensaio clínico investigando os efeitos deste composto em pacientes com elevação do segmento ST está em andamento. Vários estudos pilotos, utilizando a adenosina em humanos, também estão em andamento, sendo que o principal interesse da sua utilização, na tentativa de modificação da lesão de reperfusão, deve-se ao seu efeito na inibição da adesão de neutrófilos e na liberação de substâncias tóxicas durante a isquemia. Intervenções que inibem as selectinas, que são moléculas de adesão importantes na interação entre leucócitos e endotélio estão em fase bastante precoce de testes clínicos. Finalmente, merece destaque o magnésio como tratamento e prevenção da lesão de reperfusão que, experimentalmente mostrou-se eficiente na redução do atordoamento (*stunning*) miocárdico por bloqueio da sobre-

carga de cálcio intracelular, efeito antiplaquetário ou estimulação de circulação colateral. O ensaio ISIS-4 não foi conclusivo quanto aos benefícios clínicos do magnésio, porém esta discrepância com os dados laboratoriais permanece com um tópico de debate. Nos modelos experimentais o magnésio é, em geral, empregado no momento da reperfusão, ao passo que os pacientes do ISIS-4 foram tardiamente submetidos à reperfusão trombolítica<sup>38</sup>.

Embora a presente revisão tenha focalizado, em sua maior parte, o problema da lesão miocárdica de reperfusão, os mecanismos fisiopatológicos básicos da produção de radicais livres, lesão endotelial, produção de citocinas e ativação leucocitária representam um tema comum nas diversas formas de lesão tissular que se segue à isquemia e reperfusão. Os mecanismos da lesão de reperfusão relativos ao cérebro, fígado, intestino e músculo esquelético têm contribuído significativamente para o entendimento da lesão miocárdica de reperfusão<sup>6</sup>.

As teorias e conclusões embasadas em cerca de três décadas ou mais de pesquisa não trouxeram, infelizmente, a solução para a prevenção e tratamento da lesão de isquemia-reperfusão. Parece claro que as ciências básicas e clínicas deverão insistir em métodos de prevenção e confirmar que a reperfusão precoce é uma meta a ser perseguida. As técnicas trombolíticas de reperfusão no infarto do miocárdio têm se firmado como uma das maiores aquisições da medicina moderna, mas é evidente que ainda existe um longo caminho a ser percorrido entre o laboratório e a clínica.

Em recente publicação, que apresenta muito do que se discutiu nesta revisão, dois dos autores desta revisão afirmam que a explosão de interesse no estudo da função endotelial, irá, sem sombra de dúvida, colaborar para o entendimento da patogênese da lesão de reperfusão e do vasoespasmo coronariano, e assim contribuir para o desenvolvimento de intervenções terapêuticas<sup>40</sup>.

## Agradecimentos

Ao Prof Dr. Benedito Carlos Maciel pelo auxílio na atualização bibliográfica.

## Referências

- Hackel DB, Jennings RB - The heart. In: Rubin E, Farber DJ, eds - Pathology. Philadelphia: Lippincot, 1988: 515-25.
- Ogawa S, Koga S, Kuwabara K et al - Hypoxia-induced increased permeability of endothelial monolayers occurs through lowering of cellular cAMP levels. Am J Physiol 1992; 262: 546-54.
- Sthal RF, Deuth E, Fisher CA, Warsaw DS, Addonozio VP - Cardiac ischemia and endothelial function in the isolated rabbit heart. J Surg Res 1989; 47: 97-104.
- Ku DD - Coronary vascular reactivity after acute myocardial ischemia. Science 1982; 218: 576-8.
- Braunwald E, Kloner RA - Myocardial reperfusion: A double-edge sword? J Clin Invest 1985; 76: 1713-9.
- Secombe JF, Schaff HV - Reperfusion injury. In: Vasoactive Factors Produced By The Endothelium: Physiology and Surgical Implications. Austin: R.G. Landes 1994; 27-41.
- Case RB - The ischemic myocardium: Metabolic, electrolyte and structural abnormalities. In: Carvalho VB, Macruz R, eds - Cardiopatia Isquêmica: Aspectos de Importância Clínica. São Paulo: Sarvier 1989: 63-72.
- McAfee M, Hashimoto H, Pearson PJ, Schaff HV - Endothelial dysfunction following global cardiac ischemia and reperfusion. Surgical Forum 1990; 41: 301-11.
- Pearson PJ, Schaff HV, Vanhoutte PM - Acute impairment of endothelium-dependent relaxations to aggregating platelets following reperfusion injury in canine coronary arteries. Circ Res 1990; 67: 385-93.
- Pearson PJ, Schaff HV, Vanhoutte PM - Long-term impairment of endothelium-dependent relaxations to aggregating platelets following reperfusion injury in canine coronary arteries. Circulation 1990; 81: 1921-27.
- Hashimoto K, Pearson PJ, Schaff HV, Cartier R - Endothelial cell dysfunction after

- ischemic arrest and reperfusion: a possible mechanism of myocardial injury during reflow. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 102: 688-94.
12. Gertz SD, Uretsky G, Wajnberg RS, Navot N, Gotman MS - Endothelial cell damage and thrombus formation after partial arterial constriction. *Circulation* 1981; 63: 476-86.
  13. Feinberg H, Rosenbaum DS, Levitsky S, Silverman NA, Kohler J, LeBreton G - Platelet deposition after surgically induced myocardial ischemia. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1982; 84: 815-22.
  14. Lam JY, Chesebro JH, Steele P, Badimon L, Fuster V - Is vasospasm related to platelet deposition? Relationship in a porcine preparation of arterial injury in vivo. *Circulation* 1987; 75: 243-8.
  15. Pearson PJ, Schaff HV, Vanhoutte PM - Hypoxia causes endothelium-dependent contraction of canine coronary arteries following reperfusion injury. *FASEB J* 1990; 4(0): A1184.
  16. Pearson PJ, Lin PJ, Schaff HV, Vanhoutte PM - Augmented endothelium-dependent hypoxic constrictions in vivo and in vitro early following coronary reperfusion injury. *Circulation* 1990; 82(suppl III): 507.
  17. Pearson PJ, Lin PJ, Schaff HV - Production of endothelium-derived contracting factor is enhanced following coronary reperfusion and dependent on L-arginine. *Ann Thorac Surg* 1991; 51: 788-93.
  18. Cartier R, Pearson PJ, Lin PJ, Schaff HV - Time course and extent of recovery of endothelium-dependent contractions and relaxations after direct arterial injury. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 102: 371-7.
  19. Lin PJ, Pearson PJ, Cartier R, Schaff HV - Superoxide anion mediates the endothelium-dependent contractions to serotonin by regenerated endothelium. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 102: 378-85.
  20. Cattani S, Drobinski G, Artigou JY, Grogogeat Y, Cabrol C - Coronary artery spasm in a transplant patient. *Eur Heart J* 1988; 9: 557-60.
  21. Langou RA, Wiles JC, Peduzzi PN, Hammond GL, Cohen LS - Incidence and mortality of perioperative myocardial infarction in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Circulation* 1977; 56(suppl II): 54.
  22. Evora PRB, Pearson PJ, Schaff HV - Função endotelial e vasoespasm coronariano após cirurgia cardíaca. *Arq Bras Cardiol* 1993; 61: 119-25.
  23. Evora PRB, Pearson PJ, Schaff HV - "Impaired endothelium-dependent relaxation to sodium fluoride following coronary reperfusion injury: Evidence for G-protein dysfunction". *Ann Thorac Surg* 1994; 57: 1550-6.
  24. Tsao PS, Aoki N, Lefer DJ, Johnson G III, Lefer AM - Time course of endothelial dysfunction and myocardial injury during myocardial ischemia and reperfusion in the cat. *Circulation* 1990; 82: 1402-12.
  25. Hashimoto K, Pearson PJ, Schaff HV, Cartier R - Endothelial cell dysfunction after ischemic arrest and reperfusion: A possible mechanism of myocardial injury during reflow. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 102: 688-94.
  26. Nichols WW, Mehta JL, Donnelly WH, Lawson D, Thompson L, ter Riet M - Reduction in coronary vasodilator response following coronary occlusion and reperfusion in anesthetized dog: Role of endothelium-derived relaxing factor, myocardial neutrophil infiltration and prostaglandins. *J Mol Cell Cardiol* 1988; 20: 943-54.
  27. Treasure CB, Alexander RW - Angina pectoris, myocardial infarction, and biology of atherosclerosis. In: Califf RM, Mark DB, Wagner GS - *Acute Coronary Care*, 2<sup>nd</sup> ed. St Louis: Mosby-Year Book 1995; 56-67.
  28. Sobey CG, Dalipram RA, Dusting GJ, Woodman OL - Impaired endothelium-dependent relaxation of dog coronary arteries after myocardial ischaemia and reperfusion: Prevention by amlodipine, propranolol and allopurinol. *Br J Pharmacol* 1992; 105: 557-62.
  29. Korthuis RJ, Grisham MB, Granger DN - Leucocyte depletion attenuates vascular injury in posts ischemic skeletal muscle. *Am J Physiol* 1988; 254: H823-7.
  30. Inauen W, Granger DN, Meininger CJ, Schelling ME, Grainger HJ, Kvietys PR - Anoxia-reoxygenation-induced, neutrophil-mediated endothelial cell injury; Role of elastase. *Am J Physiol* 1990; 28: H925-31.
  31. Smedly LA, Tonnesen MG, Sandhaus RA et al - Neutrophil-mediated injury to endothelial cells: Enhancement by endotoxin and essential role of neutrophil elastase. *J Clin Invest* 1986; 77: 1233-43.
  32. Ma XL, Lefer DJ, Lefer AM, Rothlein R. Coronary endothelial and cardiac protective effect of a monoclonal antibody to intercellular adhesion molecule-1 in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation* 1992; 86: 937-46.
  33. Tanaka M, Brooks SE, Richard VJ et al - Effect of anti-CD18 antibody on myocardial neutrophil accumulation and infarct size after ischemia and reperfusion in dogs. *Circulation* 1993; 87: 526:35.
  34. Simpson PJ, Todd RF III, Michelson JK et al - Sustained limitation of myocardial reperfusion injury by a monoclonal antibody that alters leucocyte function. *Circulation* 1990; 81: 226-37.
  35. Karmazyn M - Ischemic and reperfusion injury in the heart. Cellular mechanisms and pharmacological interventions. *Can J Physiol Pharmacol* 1991; 69: 19-30.
  36. Takeuchi K, McGowan FX, Danh H-C, Glynn P, Simplaceanu E, del Nido PJ - Direct detrimental effects of L-arginine upon ischemia-reperfusion injury to myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27: 1405-14.
  37. Vinten-Johansen J, Zhao Z-Q, Sato H - Reduction in surgical ischemic-reperfusion injury with adenosine and nitric oxide therapy. *Ann Thorac Surg* 1995; 60: 852-7.
  38. Herzog WR, Califf RM - Efforts to prevent reperfusion injury. In: Califf RM, Mark DB, Wagner GS - *Acute Coronary Care* (2<sup>nd</sup> ed). St Louis: Mosby-Year Book 1995; 377-89.
  39. Lefer AM, Lefer DJ - Endothelial dysfunction in myocardial ischemia and reperfusion: role of oxygen-derived free radicals. *Basic Res Cardiol* 1991; 86(suppl 2): 109-16.
  40. Seccombe JF, Schaff HV - Coronary artery endothelial function after myocardial ischemia and reperfusion. *Ann Thorac Surg* 1995; 60: 778-88.