

P. J. F. Tucci *
R. H. Maciel **

ESTABILIDADE FUNCIONAL DO CORAÇÃO ISOLADO DE COBAIA CONTRAINDO ISOVOLUMETRICAMENTE

Em 8 corações de cobaia, contraindo isovolumetricamente, foi acompanhada a evolução temporal das seguintes variáveis: frequência cardíaca (FC), pressão diastólica ventricular coronária. Verificou-se que, nos corações perfundidos com solução de Krebs-Henseleit meira derivada temporal da pressão ventricular (dp/dt), fluxo coronário e resistência vascular coronária. Verificou-se que, nos corações, perfundidos com solução de Krebs-Henseleit à pressão de 100 cm/s de água, a FC diminuiu nos primeiros 30 minutos, contados a partir do momento da extração. Posteriormente, o cronotropismo manteve-se estável até o final das experiências (135 min). Os atributos da circulação coronária denotaram elevação da resistência vascular desde o isolamento do coração. O comportamento da PD e da dp/dt mostrou que a função contrátil apresentou fase de melhora durante os primeiros 45 min e manteve-se sem sinal de deteriorização até 105 min. Após este período houve depressão do inotropismo cardíaco. A Pd, em que pese terem sido mantidos constantes os volumes ventriculares, variou inversamente aos índices de contratilidade miocárdica, sugerindo a ocorrência de modificações da complacência muscular durante o período de perfusão.

A fibra cardíaca pode variar seu desempenho às custas de modificações do comprimento em repouso ou permanecendo fixo seu estiramento. No primeiro caso, configura-se o envolvimento do mecanismo de Frank-Starling, justificado, mais correntemente, pelo deslizamento entre os filamentos grossos e finos dos sarcômeros que resulta em recrutamento de maior ou menor número de pontos de interação ativa entre a miosina e a actina¹⁻⁶. Por outro lado, as flutuações da função contrátil que se processam sem alterações do comprimento inicial da fibra se baseiam em variações da energia liberada a nível de cada ligação actina-miosina⁷⁻¹⁰, refletindo o que se convencionou chamar de contratilidade miocárdica ou inotropismo. Admite-se, inclusive, estar essa propriedade vinculada à velocidade de reação da ATPase miosínica^{7,11,12}.

Ao avaliar o comportamento de um atributo sistólico no coração intacto, com muita frequência se nos depara a impossibilidade de estabelecer se o desempenho cardíaco se modificou por interferência do mecanismo de Frank-Starling, da contratilidade miocárdica, ou de ambos. Essa dificuldade gerou o interesse por preparações que, tendo o comprimento diastólico da miofibrila fixo, possibili-

tassem o estudo do inotropismo cardíaco pela análise do comportamento dos parâmetros sistólicos. Entre as diversas preparações descritas salienta-se, pela facilidade de seu preparo e pela fidelidade dos resultados a que conduz, o coração isolado mantido em contrações isovolumétricas. O seu emprego implica porém, no devido conhecimento de sua evolução temporal, e na ausência de qualquer interferência sobre sua função.

Este trabalho foi conduzido com o propósito de determinar a estabilidade funcional do coração isolado de cobaia mantido em perfusão de Langendorff, contraindo isovolumetricamente, para posterior utilização, em pesquisas relacionadas com o estado contrátil.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas cobaias de ambos os sexos pesando entre 500 e 650 g. Por via subcutânea eram injetadas 2.500 U de heparina e trinta minutos após os animais eram sacrificados por golpe na região cervical posterior. Após esgorja os corações eram rapidamente extraídos e fixados pela aorta na cânula de perfusão.

* Departamento de Ciências Fisiológicas da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu

** Departamento de Fisiologia e Biofísica da Universidade de Campinas.

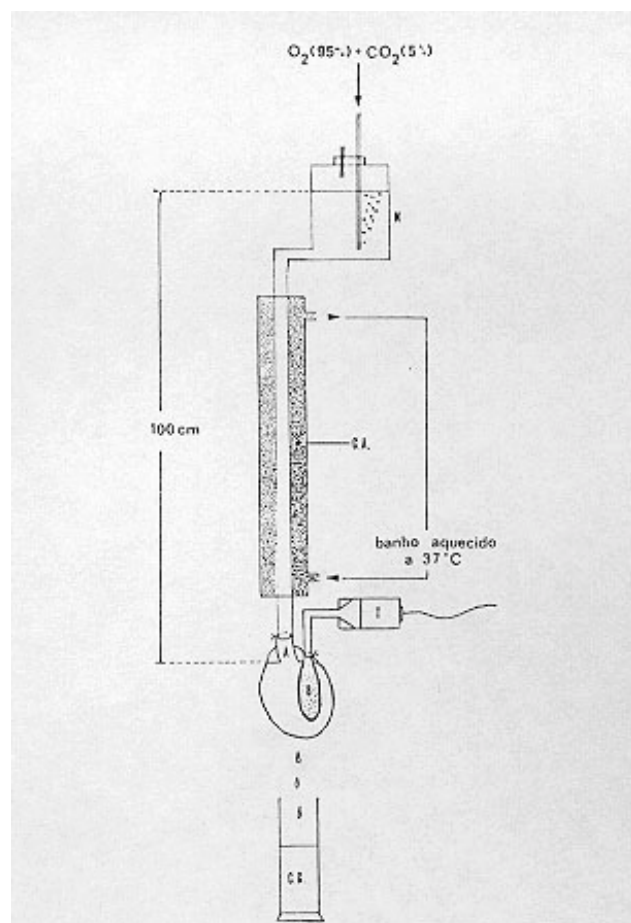


Fig. 1 - Esquema da preparação utilizada. M: frasco de Mariotte contendo a solução nutritora aerada; C.A.: câmara de aquecimento da solução; T: transdutor de pressão; A.: aorta do coração isolado; B.: balão mantido dentro do ventrículo esquerdo; C.G.: cilindro graduado.

A preparação utilizada (fig. 1) foi a descrita em trabalhos de outros autores¹³⁻¹⁶. O líquido nutriente consistiu de solução de Krebs-Henseleit aquecida a 37°C, tamponada em pH 7,4 e aerada com mistura de O₂ a 95% e CO₂ a 5%. A pressão de perfusão foi mantida a nível de 100 cm de água. Pequeno balão de látex, ligado a uma cânula de polietileno, era colocado dentro do ventrículo esquerdo, através de incisão realizada na parede do átrio esquerdo e sua posição era fixada por sutura em bolsa realizada na base do átrio.

Antes de se colocar o balão, a ponta do ventrículo esquerdo era perfurada com agulha (diâmetro externo de 12 mm) para drenagem do líquido que atinge a câmara ventricular pela circulação de Thebesio.

O balão era insuflado com quantidade de líquido suficiente para que a pressão diastólica ventricular alcançasse de 6 a 12 mmHg e esse volume não mais era modificado. Previamente, as características volume-pressão do balão foram aferidas, possibilitando verificar que os volumes utilizados durante as experiências foram admitidos pelo balão com pressão nula.

A pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo foi avaliada por transdutor P - 1.000 A * acoplado a "transducer coupler" 1773 * e amplificador 7010 *. Foi considerado como ní-

vel de referência zero o plano que passava pelo meio do eixo longitudinal do ventrículo esquerdo.

Um diferenciador RC, com constante de tempo 0,5 mseg, acoplado a "Hi-gain Coupler" 1771 * e a amplificador 7070 * permitia o registro da primeira derivada temporal da pressão ventricular (dp/dt).

A pressão ventricular e a dp/dt foram registradas; em polígrafo Physiograph SIX-B * de inscrição direta.

A frequência cardíaca foi obtida avaliando-se o tempo decorrido entre duas ondas de pulso consecutivas.

O líquido efluente da preparação, espelhando o fluxo coronário, teve seu valor estimado por coleta minutada em cilindro graduado.

A resistência vascular coronária foi calculada em unidades arbitrárias de mmHg/ml/m, relacionando-se a pressão de perfusão coronária, transformada em mmHg e o fluxo coronário medido em ml/min.

A primeira coleta de dados foi realizada após terem decorrido 15 minutos da extração do coração. Novos registros foram obtidos, a cada 15 minutos, durante as duas horas seguintes.

RESULTADOS

Foram analisados os resultados correspondentes a 8 preparações. O número de insucessos, ao se utilizar a técnica descrita, foi irrelevante, devendo-se, basicamente a arritmias incontrolláveis. Um dos casos incluídos na casuística analisada apresentou, também, extra-sístolia freqüente que só foi controlada após utilização de marca-passo atrial. Por esse motivo seus valores de frequência cardíaca foram excluídos dos resultados apresentados, a partir do momento da instalação do marca-passo. Nos demais casos, extra-sístoles foram observadas irregularmente, não se constituindo, entretanto, em impedimento para continuação das experiências. Permaneceu a impressão que, na gênese das arritmias observadas, foi considerável a participação da irritação mecânica provocada pelo conjunto

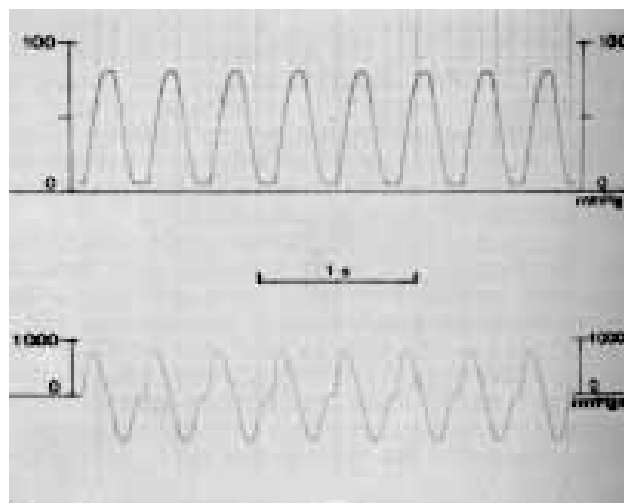


Fig. 2 - Exemplo de curvas da pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo (acima) e sua primeira derivada temporal (abaixo) obtidas em uma das experiências.

* Narco Bio - Systems Inc.

balão-cânula, pois as extrassístoles eram minimizadas ou mesmo debeladas pelo simples rearranjo do conjunto dentro da cavidade ventricular.

É oportuno salientar a importância de heparinizar os animais antes de sacrificá-los. Corações obtidos em experiências pilotos sem o uso prévio do anticoagulante redundaram, repetidamente, em preparações com desempenho inadequado.

Na figura 2 está exposto um traçado obtido em uma das experiências. As curvas de

pressão e da dp/dt inscrevem-se com as morfologias descritas para preparações em contrações isovolumétricas¹⁶⁻¹⁸. Nota-se a forma aproximadamente triangular da curva pressórica e, na dp/dt , verifica-se que a fase descendente passa pelo ponto zero sem nele permanecer, configurando a ausência de contração isotônica.

Na tabela I e na figura 3 estão resumidos, sob forma de média $\pm$ erro-padrão da média, os resultados obtidos nas 8 preparações estudadas.

TABELA I - Estabilidade funcional do coração isolado de cobaia.

T	Atributo (média $\pm$ erro padrão da média)					
	FC Bpm	Pd mmHg	PD mmHg	dp/dt mmHg/s	$\emptyset$ Cor. ml/min.	R. Cor. mmHg/ml/min.
15 min.	182 $\pm$ 14	10,5 $\pm$ 1,4	54 $\pm$ 10	592 $\pm$ 123	20,0 $\pm$ 4,6	3,88 $\pm$ 1,00
30 min.	157 $\pm$ 9	6,1 $\pm$ 1,4	63 $\pm$ 9	653 $\pm$ 100	18,8 $\pm$ 4,9	4,26 $\pm$ 1,58
45 min.	157 $\pm$ 7	5,1 $\pm$ 1,4	73 $\pm$ 8	793 $\pm$ 105	16,1 $\pm$ 3,7	4,84 $\pm$ 1,35
60 min.	156 $\pm$ 6	4,0 $\pm$ 1,3	74 $\pm$ 7	820 $\pm$ 84	15,0 $\pm$ 4,2	5,35 $\pm$ 1,79
75 min.	152 $\pm$ 8	4,1 $\pm$ 1,3	73 $\pm$ 7	823 $\pm$ 82	13,1 $\pm$ 3,9	6,13 $\pm$ 1,90
90 min.	153 $\pm$ 9	3,1 $\pm$ 1,1	75 $\pm$ 6	833 $\pm$ 71	13,4 $\pm$ 3,5	5,89 $\pm$ 1,88
105 min.	149 $\pm$ 9	4,0 $\pm$ 1,4	71 $\pm$ 5	784 $\pm$ 65	12,6 $\pm$ 3,5	6,33 $\pm$ 1,93
120 min.	152 $\pm$ 7	5,0 $\pm$ 1,5	68 $\pm$ 5	753 $\pm$ 59	12,6 $\pm$ 3,9	6,39 $\pm$ 1,99
135 min.	147 $\pm$ 7	5,0 $\pm$ 1,6	64 $\pm$ 5	664 $\pm$ 41	11,4 $\pm$ 3,7	6,99 $\pm$ 2,10

T: tempo decorrido após retirada do coração; FC: frequência cardíaca; Pd: pressão diastólica ventricular; PD: pressão desenvolvida; dp/dt : primeira derivada temporal da pressão ventricular; $\emptyset$ Cor.: fluxo coronário; R. Cor.: resistência vascular coronária.

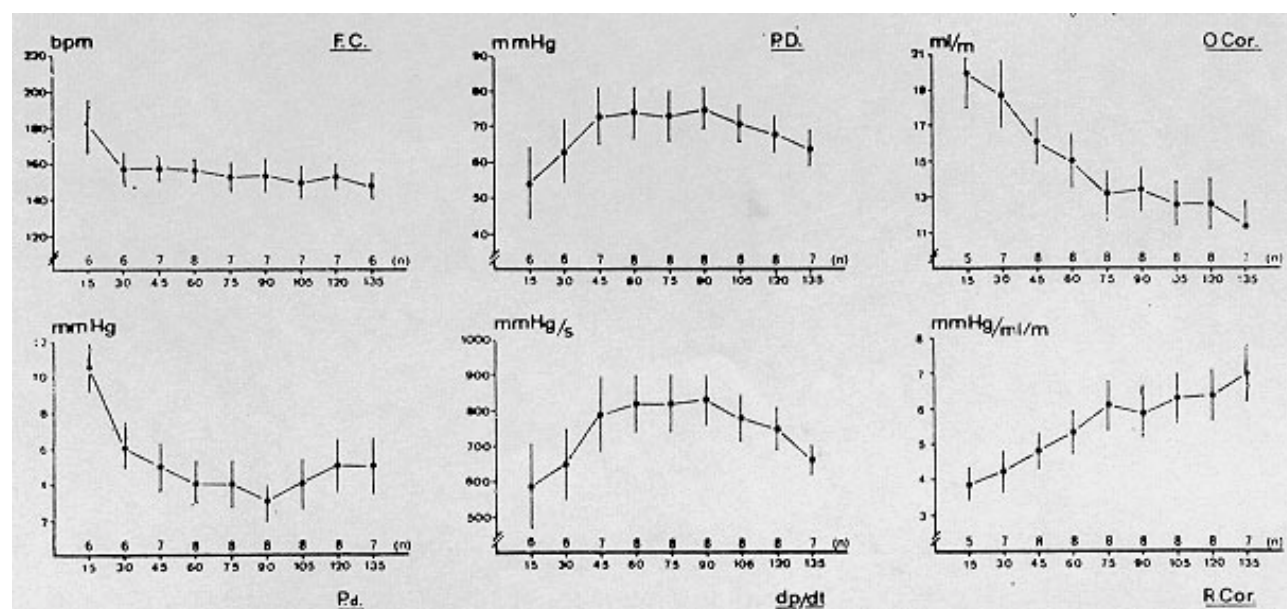


Fig. 3 - Médias () e erros-padrão das médias (barras verticais) para a frequência cardíaca (FC); pressão diastólica (Pd); pressão desenvolvida (PD); primeira derivada temporal da pressão ventricular (dp/dt); fluxo coronário ($\emptyset$ cor.) e resistência vascular coronária (R. Cor.), durante 135 minutos de observação. Está exposto, também, o número de observações em cada instante (n).

O cronotropismo cardíaco após sofrer depressão nos primeiros 30 minutos de perfusão, manteve-se em nível estável.

A circulação coronária, a partir do início das experiências mostrou tendência à eleva-

ção da sua resistência, com conseqüente queda do aporte de perfusato ao miocárdio.

A pressão diastólica ventricular (Pd), em que pese o fato de o volume da cavidade manter-se constante, evoluiu com marcadas alte-

rações. Houve declínio inicial de seus valores, com tendência à recuperação no final do período de acompanhamento. Esse comportamento da Pd a volumes ventriculares constantes reflete modificações da complacência ventricular.

Os índices de inotropismo cardíaco-pressão desenvolvida (PD) e dp/dt - revelaram que até cerca de 45 minutos de perfusão, o coração tem seu estado contrátil, melhorado, seguindo-se aceitável fase de estabilidade até 105 minutos. A partir desse momento se iniciou-se o processo de deteriorização das propriedades contráteis.

Correlacionando-se as variações verificadas para PD e Pd, normalizadas para seus valores iniciais tomados como 100%, verificou-se que tais parâmetros se associaram segundo a reta $y = -31 - 0,82x$, com coeficiente de correlação $-0,83$ (figura 4).

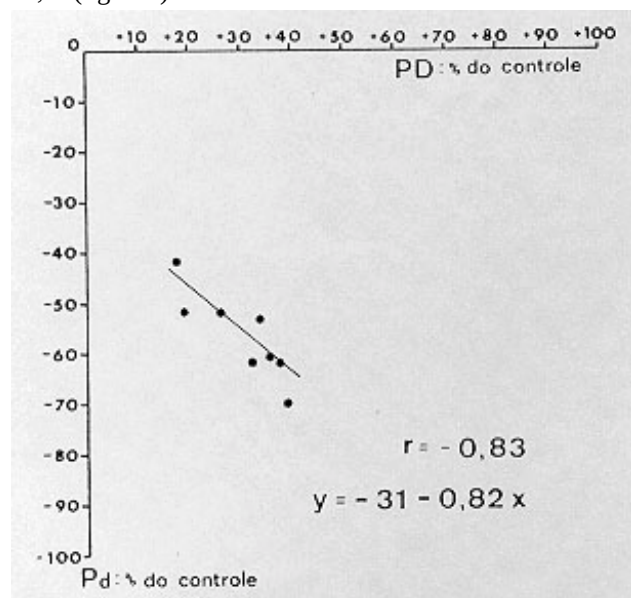


Fig. 4 - Correlação entre as variações percentuais verificadas para a pressão desenvolvida (PD) e para a pressão diastólica ventricular (Pd), tomando-se o valor inicial como 100%.

DISCUSSÃO

Os resultados observados permitem admitir que a contratilidade miocárdica se mantém em aceitável estabilidade durante o período compreendido entre 45 e 105 minutos de perfusão. As modificações dos valores da PD e da dp/dt nessa fase foram irrisórias, tornando-a propícia para o procedimento de testes relacionados com manobras inotrópicas.

Os fatores determinantes das observadas flutuações do estado contrátil ainda não estão bem definidos. Em que pese o fato de ser conhecido o fenômeno de preparações isoladas apresentarem fase inicial de melhora do inotropismo¹⁹, os mecanismos envolvidos nessa etapa de acomodação permanecem obscuros. Especula-se que essa variação possa ter conexão com a liberação de catecolaminas das terminações nervosas simpáticas, entretanto, o comportamento inverso do automatismo cardíaco durante o período inicial, torna pouco verossímil essa possibilidade. Já os fatores responsáveis pelo declínio da eficiência contrátil

são melhores conhecidos. A causa final, ocasionadora de deteriorização da função contrátil, é o edema miocárdico, cuja ocorrência pode ser antecipada ou retardada, na dependência, entre outros, dos seguintes fatores²⁰⁻²³: constituição química e temperatura do líquido nutriente, pressão de perfusão coronária, condição isotônica ou isométrica da contração, presença ou ausência de metais pesados contaminantes da solução.

Ressalta entre os resultados a evolução verificada para a pressão diastólica. Poderia se prever que, fixando-se o estiramento das fibras por meio da constância do volume ventricular, deveriam permanecer imutáveis os valores da Pd. Não obstante, esse não foi o seu comportamento.

As variações da Pd constituíram-se em imagem especular daquelas exibidas pela PD. O elevado valor do coeficiente de correlação, obtido quando se cotejaram as modificações sofridas por esses parâmetros, fornece subsídio para se sugerir que alterações de um desses atributos condiciona mudanças do outro. Essa suposição encontra respaldo nos achados de Sonnenblick e cols.²⁴. Esses autores verificaram que a tensão de repouso, na fibra mantida em estiramento constante, é inversamente proporcional à força produzida na contração, comprovando que às oscilações da tensão ativa sobrevêm modificações das propriedades elásticas do miocárdio. Dessa interação tensão ativa-propriedades elásticas resulta que os incrementos da força contrátil desencadeiam elevação da complacência muscular. Nossos resultados superpõem-se às observações de Sonnenblick e cols.

Os resultados atinentes à circulação coronária tornaram claro que desde o início da experimentação há tendência à constricção desse leito vascular e o fenômeno decorre conforme sugestões

anteriores^{20,25} por edema miocárdico. Deve-se salientar que o nível pressórico utilizado para perfusão foi consideravelmente maior que aquele apresentado normalmente pela cobaia²⁶, fato esse que possivelmente acelerou o processo de degeneração da rede coronária. Essa assertiva é corroborada pelos resultados de outros autores^{21,23} que obtiveram preparações estáveis por períodos mais prolongados, ao se valerem de níveis mais baixos de pressão de perfusão.

SUMMARY

The functional stability of the isolated isovolumic guinea pig heart was studied. The heart rate, the ventricular diastolic pressure, the developed pressure (DP), the rate of rise of pressure (dp/dt), the coronary output and the coronary vascular resistance were evaluated during 135 minutes of observation. A Krebs-Henseleit solution was used as nutrient liquid at a perfusion pressure of 100 cm/s H O. There was an immediate period of depressed chronotropism² in the first thirty minutes; thereafter, the heart rate did not suffer further variations. Coronary vasoconstriction was observed from the beginning of the study. The values of DP and dp/dt rose during the first 45 minutes, but fell after 105 minutes of perfusion. Between these periods, the inotro-

pic indices remained stable. The diastolic pressure, on the other hand, showed initially a decrease, followed by a period of stability and then a final period of elevation. Since the ventricular volume was constant, it was concluded that the ventricular compliance varied during the perfusion period.

REFERÊNCIAS

- Jewell, B. R. - The changing face of the length-tension relation. In *The Physiological basis of Starling's law of the heart*. Ciba Foundation Symposium. Associated Scientific Publishers. J. Amsterdam. 1974.
- Leyton, R. A.; Spotnitz, H. M.; Sonnenblick, E. H. - Cardiac - ultrastructure and function: sarcomeres in the right ventricle. *Am. J. Physiol.* 221: 902, 1971.
- Leyton, R. A. - Cardiac ultrastructure and function in the normal and failing heart. In *Cardiac Mechanics*. Editors: I. Mirsky; D. N. Ghista, H. Sandler, John Wiley & Sons Inc. New York. 1974.
- Podolsky, R. J. - The mechanism of muscular contraction. *Am. J. Med.* 30: 708, 1961.
- Sonnenblick, E. H. - Correlation of myocardial ultrastructure and function. *Circulation*, 38: 29, 1968.
- Spotnitz, H. M.; Sonnenblick, E. H.; Spiro, D. - Relation of ultrastructure to function in the intact heart: sarcomere structure relative to pressure volume curves of intact left ventricles of dog and cat. *Circ. Res.* 18: 49, 1966.
- Katz, A. M. - Biochemical basis for cardiac contraction In *Cardiac Mechanics*. Editors: I. Mirsky; D. N. Ghista; H. Sandler. John Wiley & Sons Inc. New York. 1974.
- Katz, A. M. - Quantification of myocardial contractility. *Am. J. Cardiol.* 26: 331, 1970.
- Katz, A. M. - Mechanical and biochemical correlates of cardiac contraction (I). *Mod. Conc. Card. Dis.* 40: 39, 1971.
- Winkle, W. B. V.; Schwartz, A. - Ions and inotropy. *Ann. Rev. Physiol.* 38: 247, 1976.
- Katz, A. M. - Mechanical and biochemical correlates of cardiac contraction (II). *Mod. Conc. Cardiov. Dis.* 40: 45, 1971.
- Katz, A. M. - Regulation of cardiac muscle contractility. *J. Gen. Physiol.* 50: 158, 1967.
- Gonzalez, N. C.; Glancy, R. L. - Inotropic and intracellular acid base changes during metabolic acidosis. *Am. J. Physiol.* 228: 1060, 1975.
- Henry, P. D.; Sobel, B. E.; Braunwald, E. - Protection of hypoxic, guinea hearts with glucose and insulin. *Am. J. Physiol.* 226: 109, 1974.
- Henry, P. D. - Positive staircase effect in the rat heart. *Am. J. Physiol.* 228: 360, 1975.
- Kjekshus, J. K.; Henry, P. D.; Sobel, B. E. - Activation of phosphorylase by cyclic AMP without augmentation of contractility in the perfused guinea pig heart. *Circ. Res.* 29: 468, 1971.
- Ross, J. Jr.; Covell, J. W.; Sonnenblick, E. H.; Braunwald, E. - Contractile state of the heart characterized by force-velocity relations in variably after-loaded and isovolumic beats. *Circ. Res.* 18: 149, 1966.
- Taylor, R. R.; Ross, J. Jr.; Covell, J. W.; Sonnenblick, E. H. - A quantitative analyzing of left ventricular myocardial function in the intact sedated dog. *Circ. Res.* 21: 99, 1967.
- Martinez, R. E. F. - Efeitos da glicose, insulina, osmolaridade e temperatura na ação mecânica do músculo papilar do coração do rato submetido a períodos de anóxia e reoxigenação em contrastes isométricos. Tese. 1974, São Paulo.
- Blinks, J. R.; Rock-Weser, J. - Physical factor in the analysis of the actions of drugs on myocardial contractility. *Pharmacol. Rev.* 15: 531, 1963.
- Dhalla, N. S.; Bhagat, B. D.; Sulakle, P. V.; Olson, R. E. - Catecholamines stores of the isolated rat heart perfused with substrate free medium. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 177: 96, 1971.
- Kako, K.; Chondhury, J. D.; Bing, R. J. - Possible mechanism of the decline in mechanical efficiency of the isolated heart. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 130: 46, 1960.
- Neely, J. R.; Liebermeister, H.; Battersby, E. J.; Morgan, H. E. - Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat heart. *Am. J. Physiol.* 212: 804, 1967.
- Sonnenblick, E. H.; Ross, J. Jr.; Covell, J. W.; Braunwald, E. - Alterations in resting length-tension relations of cardiac muscle induced by changes in contractile force. *Circ. Res.* 19: 980, 1966.
- Stubbs, J.; Widdas, W. F. - The interrelationship of weight change and coronary flow in the isolated perfused rabbit heart. *J. Physiol.* 148: 403, 1959.
- Marshall, L. H.; Hanna, C. H. - Direct measurement of arterial blood pressure in the guinea pig. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 92: 31, 1956.