

Lesões de isquemia-reperfusão em músculos esqueléticos: fisiopatologia e novas tendências de tratamento, com ênfase em reperfusão controlada

Ischemia-reperfusion injuries in skeletal muscles: pathophysiology and new therapeutic trends focused on controlled reperfusion

José Bitu-Moreno¹, Ieda Francischetti², Ludvig Hafner³

Resumo

A obstrução arterial aguda (OAA) é a emergência mais comum em cirurgia vascular. Suas principais causas são embolias e trombozes arteriais. Além de a isquemia ser bastante lesiva, a reperfusão de tecidos isquêmicos pode levar a uma série de complicações que podem aumentar as lesões teciduais e, através de alterações sistêmicas, colocar em risco a vida do paciente. O objetivo deste artigo é revisar a pesquisa em fisiopatologia, destacando contribuições individuais, ensaios terapêuticos e controvérsias, buscando situar o problema até os dias atuais. Por fim, enfatiza-se a técnica de reperfusão controlada na atenuação das lesões de reperfusão em músculos esqueléticos.

Palavras-chave: isquemia, reperfusão, músculos esqueléticos.

Em 1911, Labey (apud Beyersdorf)¹ realizou, com sucesso, a primeira embolectomia direta em um doente com obstrução arterial aguda (OAA). Com a cirurgia, paradoxalmente, começaram a surgir complicações até então inexistentes. Algumas dessas complicações pareciam ser dependentes da revascularização, ou seja, ocorriam com a súbita reperfusão de músculos isquêmicos e incluíam o aparecimento de edema tenso²⁻⁴, estase capilar⁴, hemorragia^{2,3}, exsudação inflamatória aguda⁴ e mioglobulinemia⁵.

Além disso, descreveu-se um fenômeno, hoje conhecido como fenômeno de não-refluxo (*no-reflow*

Abstract

Acute arterial embolism is the most frequent vascular surgery emergency. Its main causes are embolies and arterial thrombosis. In addition to severe ischemia, reperfusion of the ischemic tissues can cause several complications that may worsen the lesion. Through systemic alterations, the patient might be exposed to a life threatening situation. The objective of this paper is to review the research on pathophysiology, highlighting individual contributions, therapeutic assays and controversy, trying to offer a general view of the problem so far. Finally, we emphasize the controlled reperfusion technique used to attenuate reperfusion lesions in skeletal muscles.

Key words: ischemia, reperfusion, skeletal muscles.

phenomenon), em que áreas do músculo pós-reperfundido permaneciam, inexplicavelmente, sem perfusão. Acreditava-se que esse fenômeno fosse decorrente da oclusão trombótica da microcirculação. Entretanto, em 1948, Harman⁴ demonstrou que isso não era verdade por meio de experimentos em coelhos cujos membros pélvicos eram submetidos à aplicação de torniquete por períodos que variavam de duas a oito horas. Harman demonstrou haver estase e ausência de sinais de trombos na microcirculação. Para explicar a razão dessa estase, muitos investigadores sugeriram que o edema seria o principal componente da síndrome da reperfusão^{6,7}. Dentro desse conceito, as ações que diminuíssem o edema implicariam em melhor viabilidade do membro⁸. Na verdade, o fenômeno da não-reperfusão ocorria logo após a reperfusão, enquanto a formação de um edema hemodinamicamente importante deveria requerer mais tempo para se desenvolver. Em 1951, Burton⁹ introduziu o conceito de “pressão crítica de abertura alta”. Esse autor sugeriu que, após isquemia prolonga-

1. Professor Assistente Doutor, Chefe da Disciplina de Cirurgia Vascular e Angiologia, Faculdade de Medicina de Marília, SP (FAMEMA).

2. Professora Assistente, FAMEMA.

3. Professor Assistente Doutor da Disciplina de Angiologia e Cirurgia Vascular, FAMEMA.

da, essa pressão crítica de abertura tornava-se excessivamente alta, a ponto que as arteríolas musculares não se abriam ao fluxo de sangue. Esse aumento na resistência vascular periférica seria explicado com base no edema muscular, no espasmo arterial e no efeito da depleção energética sobre a interação actina-miosina. O espasmo arterial já havia sido defendido anteriormente por outros autores^{3,10} como causa de necrose muscular pós-isquêmica; porém, estudos levados a cabo acerca da correlação entre o diâmetro dos vasos e a quantidade de fluxo sanguíneo, assim como as demonstrações clínicas e angiográficas realizadas por Harman⁴, em 1948, excluíram o espasmo como um componente importante. Outras evidências que vieram apoiar a hipótese da “pressão crítica de abertura alta” não foram convincentes.

Outros autores também evidenciaram a presença de lesões pós-isquêmicas ou de reperfusão. Em 1946, Meneely et al. (apud Harman)⁴, como resultado de oclusões temporárias e reperfusão de artéria coronária em modelos experimentais, demonstraram lesões progressivas do miocárdio, através de estudos eletrocardiográficos, após o restabelecimento do fluxo sanguíneo. Harman & Gwinn¹¹, em 1949, descreveram um grande aumento no grau de lesão de fibras musculares em patas isquêmicas de coelhos, após a retirada do torniquete. Dahlback & Rais¹² observaram evidências histológicas de lesão tecidual, subseqüentes a uma isquemia, progressivas em intensidade quanto mais longa a fase de reperfusão.

No entanto, foi Haimovici¹³, em 1960, quem sistematizou e caracterizou essas complicações como uma síndrome, denominando-a síndrome metabólica mionefropática, hoje também conhecida como síndrome de reperfusão, síndrome do torniquete ou síndrome pós-isquêmica. Em 1962, Cormier e Legrain¹⁴ também descreveram essa síndrome, por isso também conhecida como síndrome de Legrain-Cormier-Haimovici.

Em 1963, a embolectomia indireta com o uso do cateter de Fogarty¹⁵ tornou-se a terapia de escolha para OAA, passando a ser realizada em larga escala devido à simplicidade técnica e ao sucesso cirúrgico. Isso levou, por outro lado, a uma maior freqüência nas lesões de reperfusão e, acima de tudo, os índices de mortalidade continuaram ainda muito altos¹⁶⁻²¹.

As alterações musculares, morfológicas e funcionais, que se seguem a períodos de isquemia superiores a três horas, incluem enfraquecimento na habilidade de

desenvolver tensão; edema mitocondrial; ruptura na organização dos sarcômeros; e escape de enzimas citosólicas para a circulação (Figuras 1, 2 e 3). Essas alterações são agravadas pela reperfusão^{22,23}. Já na microcirculação, observa-se marginação; aderência e infiltração leucocitárias; edema e desnudação das células endoteliais; aumento da permeabilidade microvascular; além de desenvolvimento do fenômeno da não-reperfusão^{7,21,24-26}.

Causas das lesões

No entanto, uma vez que se estabeleceu que a reperfusão era lesiva, qual seria o fator ou os fatores causais no desencadeamento dessas lesões?

Evidências sugeriram a reintrodução do oxigênio molecular nos músculos isquêmicos como o principal agente lesivo da reperfusão. Roberts et al.²⁷, através de experimentos com alguns músculos esqueléticos de cães, descreveram os seguintes achados: na isquemia total, por ocasião da reperfusão, os valores de ATP e da diferença de potencial transmembrana voltaram prontamente ao normal; na isquemia parcial, não obstante os níveis adequados de ATP intracelular, houve uma alteração da diferença de potencial transmembrana, que guardava proporção direta com o tempo da reperfusão. Posteriormente, Perry & Fantini²⁸, utilizando modelos experimentais análogos, administraram, imediatamente antes da reperfusão, superóxido dismutase (SOD), uma enzima removedora do radical superóxido, e observaram que a mesma prevenia a deterioração progressiva da diferença do potencial transmembrana.

Em 1987, Walker et al.²⁹ demonstraram que a reperfusão do músculo gracilis de cão com plasma artificial, ao qual foram adicionados eritrócitos e oxigênio de forma gradual, implicava em diminuição significativa da necrose pós-isquêmica associada à reperfusão normóxica.

Ratyck et al.³⁰ submeteram culturas de células endoteliais da artéria pulmonar de ratos a anoxia, seguida por reoxigenação. Sem a anoxia, no grupo controle, as células permaneceram viáveis durante todo o experimento, com mínimas evidências de lesão. O processo de anoxia seguido por reoxigenação produziu lesão celular em 71% ± 6% das células. Os autores também adicionaram SOD e catalase às culturas, antes da anoxia ou antes da reperfusão. Os resultados demonstraram serem elas eficientes na atenuação de lesões da anoxia-reoxigenação. O fato de serem igualmente

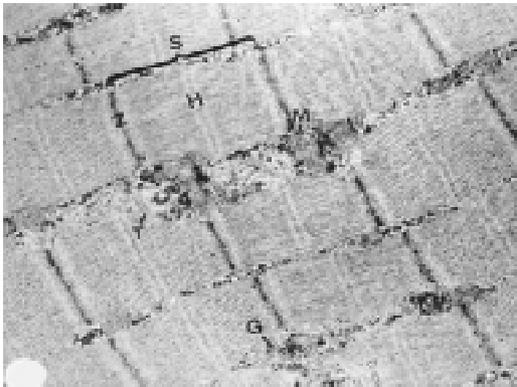


Figura 1 - Microscopia eletrônica de músculo normal. Células musculares bem preservadas com sarcômeros (S) sem alterações, glicogênio (G), sistema tubular (T) e mitocôndrias (M) (X31.900).

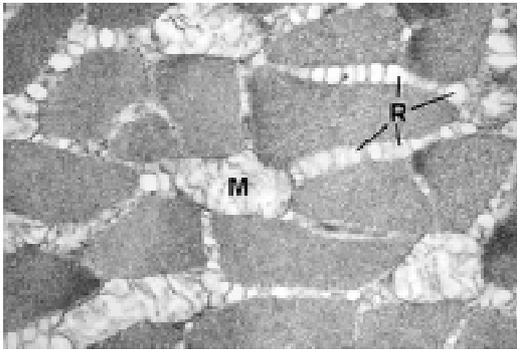


Figura 2 - Microscopia eletrônica de músculo soleus após quatro horas de isquemia completa e duas horas de reperfusão. Mitocôndrias (M) bem edemaciadas, com perda de matriz densa e dilatação de sistema reticular (R) (X21.000).

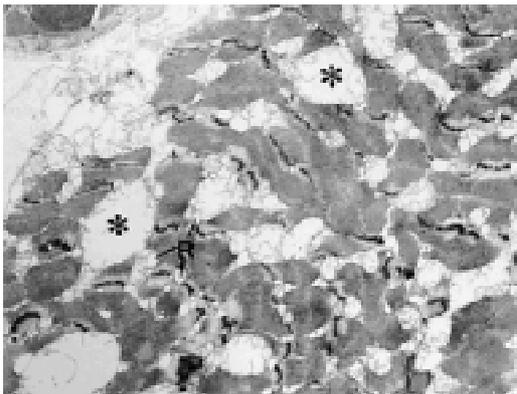


Figura 3 - Microscopia eletrônica de músculo soleus após quatro horas de isquemia completa e duas horas de reperfusão. Desorganização de miofibrilas, mitocôndrias (*) com lesões irreversíveis, edema de miofibrilas, separação de miofibrilas, sistema reticular dilatado (R) (X6.500).

efetivas, tanto antes da anoxia quanto antes da reoxigenação, confirmou que as lesões ocorriam, primariamente, por ocasião da reperfusão e que, além disso, eram mediadas por algum processo dependente da formação de radicais livres do oxigênio (RLO).

Korthuis et al.³¹ realizaram estudos com a reperfusão experimental por meio de sangue com conteúdo normal de oxigênio e sangue não-oxigenado. A reperfusão com sangue normalmente oxigenado provocou, comparativamente, lesões mais extensas e evidentes na microcirculação dos músculos esqueléticos do que as provocadas pela reperfusão com sangue sem oxigênio. Além disso, quando o sangue sem oxigênio da reperfusão foi substituído por sangue normalmente oxigenado, as lesões na microcirculação tornaram-se evidentes.

Portanto, as evidências acumularam-se, apontando o oxigênio molecular no líquido da reperfusão como um agente potencialmente lesivo. Entretanto, como seria o mecanismo de lesão?

Mecanismo das lesões

Harris et al.²³, em modelo de músculo gracilis de cão submetido a isquemia seguida por reperfusão, observaram que produtos da peroxidação lipídica apareceram em grande quantidade por ocasião da reperfusão, nos animais em que os músculos tiveram lesões irreversíveis (sete horas de isquemia); esses produtos não foram encontrados seguindo-se a uma lesão muscular isquêmica reversível (duas horas de isquemia).

Lindsay et al.³² demonstraram a presença de produtos de peroxidação lipídica em baixos níveis em músculos esqueléticos de cães, por ocasião da isquemia. Um pequeno – embora significativo – aumento foi observado ao final da isquemia e, por ocasião da reperfusão, um grande e substancial aumento foi relatado. Sabendo-se que os radicais livres, agindo sobre os lipídios, provocam a formação desses produtos, e que as membranas celulares possuem lipídios como constituintes fundamentais de sua estrutura, os autores sugeriram que os RLO agiriam primariamente nos lipídios das membranas, provocando grandes lesões celulares. Acumularam-se outras evidências relativas a essa participação dos radicais livres.

Korthuis et al.²⁴, em modelo de músculo gracilis de cão submetido a quatro horas de isquemia seguida por duas horas de reperfusão, utilizaram alopurinol, catalase, SOD, dimetil sulfoxido (DMSO), difenidramina

ou cimetidina, separadamente, como pré-tratamento, com o objetivo de atenuar as lesões decorrentes do processo de isquemia-reperfusão. Alopurinol, SOD, DMSO e, em menor proporção, catalase, mostraram-se efetivos na prevenção do aumento da permeabilidade microvascular. O uso de DMSO, além disso, preveniu o aumento da resistência vascular periférica e a conseqüente redução do fluxo sanguíneo no músculo reperfundido.

Sendo o alopurinol um inibidor da enzima xantina oxidase, e tendo ele atenuado as lesões de isquemia-reperfusão nos músculos esqueléticos, conforme o experimento anterior²⁴, as evidências apontam fortemente para um importante papel da xantina oxidase como fonte dos RLO nesse processo, uma vez que já se conhecia o seu desempenho na patogênese das lesões de isquemia-reperfusão, principalmente em intestinos³³. Smith et al²⁶ realizaram, então, um experimento em músculos esqueléticos de ratos submetidos a duas horas de isquemia e a 30 minutos de reperfusão. Nesse estudo, tanto a inibição da xantina oxidase com oxipurinol quanto a sua depleção com uma dieta deficiente em molibdênio e suplementada por tungstênio foram capazes de atenuar o aumento da permeabilidade microvascular no processo de isquemia-reperfusão.

Ainda caracterizando e tentando confirmar o aumento da permeabilidade microvascular como decorrente da atuação de radicais livres lesivos, mais especificamente do radical hidroxila, Smith et al.²⁵ provocaram uma isquemia de duas horas, seguida por 30 minutos de reperfusão, em músculos esqueléticos de ratos. Utilizando a desferroxiamina e a apotransferrina como pré-tratamento, os autores buscaram evitar a formação do radical hidroxila produzido através da reação de Haber-Weiss (ou de Fenton), que utiliza o ferro com esse fim. Observou-se, então, uma grande atenuação do aumento da permeabilidade microvascular, e o radical hidroxila foi mais uma vez confirmado como bastante lesivo.

Blebea et al.³⁴, desta feita com uma tentativa não de evitar a formação, mas de remover o radical hidroxila já formado por ocasião da reperfusão, após uma isquemia de seis horas numa preparação de músculo gracilis de cães, utilizaram o manitol como removedor e verificaram uma proteção muscular significativa das lesões pós-iskêmicas.

Walker et al.²⁹, ao lado da reintrodução gradual do oxigênio no líquido de reperfusão, também adicionaram ao mesmo uma combinação de SOD, catalase e

manitol, obtendo uma proteção bem mais significativa contra a necrose muscular pós-iskêmica.

Além dos experimentos acima citados, que apontam o importante papel da reperfusão e, nessa, a atuação dos RLO como prováveis componentes lesivos principais, paralelamente, foram investigados outros mecanismos com potencial participação na fisiopatologia das lesões de reperfusão, entre os quais a ativação de granulócitos, de fosfolipase A, de complemento, de endotelina, etc.

Os granulócitos são também produtores de RLO e de outras substâncias tóxicas nos tecidos pós-iskêmicos. Fisiologicamente, esses oxidantes reativos, gerados durante a quimiotaxia e a fagocitose, são primariamente antimicrobianos, essenciais para a destruição intracelular de microorganismos. Contudo, a atividade desses oxidantes não é restrita ao meio intracelular, e sua fuga para o meio extracelular ocorre durante a ativação fagocitária. Os granulócitos ativados secretam enzimas proteolíticas (peroxidases, elastases, proteases, etc.), sintetizam prostaglandinas, liberam radicais livres e ainda, em aglomerados, ocluem a microcirculação^{35,36}.

A ação de radicais livres ou os efeitos da própria isquemia podem ativar a fosfolipase A das membranas celulares, com conseqüente formação de leucotrienos, dentre eles, o leucotrieno B₄, que se liga a receptores específicos na superfície dos granulócitos, gerando uma série de respostas, com formação ainda maior de radicais livres e proteases.

Em tecidos reperfundidos, os leucotrienos e o complemento ativado C_{5a} ativam os granulócitos, com exposição de moléculas de adesão na superfície celular, em particular as β₂ integrinas CD11 e CD18, que podem se ligar a ICAM-1 e E-selectina no endotélio ativado, promovendo transmigração de granulócitos para esse tecido³⁷. Modelos de isquemia-reperfusão esplâncnica de extremidades em ratos e de infarto miocárdico induzido em coelhos, nos quais se usaram antagonistas específicos de leucotrieno B₄, demonstraram redução de acúmulo granulocítico e aumento na sobrevida dos animais^{38,39}.

A interação de radicais livres com o endotélio vascular pode também levar à formação de outros mediadores do processo inflamatório, como o PAF (fator ativador plaquetário), além de produtos de ativação do complemento. Em modelo experimental de isquemia-reperfusão de intestino, antagonistas específicos de receptores para o PAF demonstraram efeito

positivo na diminuição da adesão ao endotélio e na transmigração extravascular de granulócitos⁴⁰.

Esses antagonistas também protegeram músculos esqueléticos de coelhos das lesões de reperfusão⁴¹ e o miocárdio de ratos⁴² e de coelhos⁴³ submetidos a infarto agudo.

Produtos de ativação do complemento, acompanhados por grande acúmulo de granulócitos, foram observados por ocasião da reperfusão em músculos esqueléticos isquêmicos⁴⁴. Animais homozigotos com deficiência de C3 e C4, apresentaram, em experimentos de isquemia-reperfusão, menor grau de permeabilidade microvascular do que animais normais⁴⁵.

O óxido nítrico (NO), substância liberada pelo endotélio vascular, parece desempenhar importante papel na manutenção da homeostase vascular, por suas atividades como vasodilatador⁴⁶, inibidor de agregação plaquetária⁴⁷, de agregação e adesão neutrofilicas⁴⁰ e, ainda, como removedor direto de ânions O_2^- ⁴⁸. O NO é sintetizado a partir de L-arginina, O_2 e NADPH, pela enzima óxido nítrico sintase. Foram demonstrados efeitos protetores do uso de L-arginina exógena numa série de modelos de isquemia-reperfusão de miocárdio⁴⁹. Em músculos esqueléticos de coelhos, a concentração de NO, quantificada pela relação NO_2/NO_3 , chegou a 89% de seu valor inicial, logo após a isquemia, com posterior queda para 77% após uma hora de reperfusão. Observou-se ainda uma significativa correlação entre baixas concentrações de NO, diminuição de fluxo sanguíneo regional e alta mortalidade, por ocasião da reperfusão⁵⁰.

Existem evidências de que a estreita relação entre o NO e a endotelina, desempenhe importante efeito na isquemia e reperfusão. A endotelina é um potente vasoconstritor e estimula a adesão de granulócitos ao endotélio vascular, interferindo nas β_2 -integrinas dos mesmos. Entre outros fatores, a isquemia e os níveis reduzidos de NO podem estimular a liberação de endotelina, com conseqüente vasoconstrição e piora da isquemia. Há relatos de que na isquemia-reperfusão ocorre aumento do número de receptores para a endotelina, através de um mecanismo cálcio-dependente, e de que os níveis de endotelina aumentam em pacientes com infarto agudo do miocárdio, sendo também mais elevados quando é baixa a produção de NO⁵¹.

O NO pode reagir com o radical O_2^- , dando origem, via ânion peroxinitrito (ONOO(-)), ao forte oxidante dióxido de nitrogênio e ao radical OH \cdot , que podem iniciar a peroxidação lipídica⁵².

Expostos os mecanismos de lesão, o fato é que, passado um século de investigações e experimentações, ainda são altos os índices de morbidade e mortalidade que acompanham as OAA.

Substâncias preventivas

Em conseqüência dessa vasta investigação, várias substâncias já foram utilizadas, inclusive clinicamente, na tentativa de minorar essas lesões, entre as quais, os chamados antioxidantes endógenos enzimáticos hidrossolúveis (SOD, catalase, glutathione peroxidase), lipossolúveis (tocoferóis, carotenóides, quinonas), alopurinol (inibidor da xantina oxidase), manitol, bloqueadores de canais de cálcio, antagonistas específicos de leucotrienos, de receptores de PAF, quelantes de ferro, filtros leucocitários e diferentes formas de depleção leucocitária, *polynitroxyl-albumin* (PNA), piruvato, L-arginina, associação de drogas, reperfusão controlada, pré-condicionamento isquêmico, etc.^{24,25,28,29,34,38-45,49-50,53-75}.

O alfa-tocoferol (AT) age *in vivo* como um antioxidante e bloqueador de radicais livres. Em vários estudos, o AT vem sendo descrito como um protetor das alterações patológicas agudas provocadas pelas lesões de reperfusão em diferentes órgãos. A adição de um análogo de alfa-tocoferol solúvel em água à solução UW (*University of Wisconsin*) diminuiu as lesões de reperfusão e melhorou a viabilidade endotelial em pulmões⁶⁰.

Trabalhos recentes demonstraram que o PNA reduziu a área de infarto em isquemia cerebral focal, inibiu as lesões de isquemia-reperfusão induzidas pela adesão de leucócitos às células endoteliais^{61,62}, assim como reduziu a peroxidação lipídica e atenuou as lesões provocadas por radicais livres em coração transplantado de porco⁶². O PNA é capaz de regenerar os nitróxidos inativados. Os nitróxidos apresentaram propriedades semelhantes às da superóxido dismutase, oxidaram íons de metais reduzidos e reagiram com o carbono central dos radicais livres⁶³⁻⁶⁶. Entretanto, os nitróxidos têm uma capacidade antioxidante limitada pela sua rápida inativação intracelular.

Acumularam-se evidências de que o piruvato age como antioxidante e melhora a função do miocárdio durante a reperfusão^{67,68}. Outros estudos demonstraram que o pré-tratamento com piruvato reduz as lesões de isquemia-reperfusão em músculos esqueléticos⁷⁰, o que o tornaria um tratamento potencial para prevenir as lesões pós-isquêmicas nesses tecidos⁷¹.

A adenosina, administrada no início da reperfusão, reduziu a disfunção microvascular em músculos esqueléticos por um mecanismo que pareceu ser conseqüente à sua habilidade de inibição da adesão e migração leucocitárias⁶⁹.

Outros modelos experimentais demonstraram que, em músculos isquêmicos, houve um grande desenvolvimento de novos vasos sanguíneos, quando a eles se transferiram enxertos pediculados de músculos, aos quais foram adicionados fatores de crescimento angiogênicos⁷². Ressalte-se que se trata de uma área em evolução e que o desenvolvimento adequado desses novos vasos ocorreram num período de uma semana, prazo por demais longo para membros com isquemia avançada.

Beyersdorf et al. relataram, experimentalmente, em modelos isolados de membros de ratos¹ e em modelos in vivo de porcos⁵⁷ que, modificando-se e controlando-se cuidadosamente a composição da solução de reperfusão e as condições da reperfusão, alcançava-se uma melhora importante no metabolismo, estrutura e função do membro após isquemia importante.

Um outro estudo⁷³ descreveu uma técnica de reperfusão controlada em que o retorno venoso foi drenado. Os autores canularam a artéria e a veia femoral; o retorno venoso inicial foi desprezado. As complicações sistêmicas foram menores do que as da reperfusão controlada artério-arterial tipo Beyersdorf.

Resultados experimentais também destacaram os efeitos benéficos do pré-condicionamento isquêmico: curtos períodos de isquemia, prévios a uma isquemia mais prolongada, tornam os tecidos mais resistentes a essa condição, além de prevenir a disfunção endotelial e a ativação de células inflamatórias, associados ao processo de isquemia-reperfusão^{74,75}. Vale ressaltar que essa técnica dificilmente se adequaria ao nosso *pool* de pacientes, que já nos chegam com obstrução arterial e isquemia prolongada, fugindo um pouco ao objetivo desta revisão.

O fato é que, até o momento, não há um tratamento eficaz, nem qualquer estudo multicêntrico, prospectivo, em larga escala com qualquer dessas drogas. Tal fato tem levado à utilização de associações de antioxidantes e a uma tendência à abordagem multifatorial, entendendo-se a isquemia-reperfusão como um fenômeno complexo, uma grande resposta inflamatória. A utilização da técnica de reperfusão controlada, proposta por Beyersdorf et al., pode vir a ser uma alternativa nessas situações^{1,57-59}.

Reperfusão controlada

A reperfusão controlada tem como objetivo evitar a amputação e possibilitar o retorno à função normal do membro, além de diminuir os efeitos sistêmicos do processo. É difícil delimitar a linha de demarcação entre a isquemia e a reperfusão. O que se observa é uma relação de dependência e causalidade entre as duas, já que a intensidade das lesões atribuídas à reperfusão parece ter relação proporcional com a duração da isquemia. Ao mesmo tempo, intervenções terapêuticas aplicadas somente durante a reperfusão reduzem o grau de lesão tecidual, implicando, assim, em melhor recuperação da extremidade^{58,59}. Nesse sentido, o sucesso de algumas terapêuticas empregadas indica que mesmo o tratamento tardio, ao final da isquemia e por ocasião da reperfusão, pode ainda ser determinante no sucesso da revascularização.

A composição da solução de reperfusão foi modificada para satisfazer os seguintes princípios: limite do influxo de cálcio; controle da hiperosmolaridade; diminuição da produção de radicais livres; aumento na concentração de glicose; restabelecimento de aminoácidos precursores de intermediários do ciclo do ácido cítrico (i.e., glutamato e aspartato); e reversão da acido-se tecidual com uma substância tampão, TRIS (tris(hidroximetil)metilamina). As condições de reperfusão que passaram a ser controladas incluíram pressões de reperfusão e de fluxo menores (<50 mmHg), temperatura corporal normal (37°C) e duração mais prolongada de reperfusão (30 minutos) para permitir uma recuperação celular antes do fluxo normal ser restabelecido. A composição da solução a ser misturada com o sangue do paciente foi escolhida objetivando-se a proteção máxima do músculo esquelético, evitando-se ao mesmo tempo efeitos colaterais indesejáveis.

A técnica de reperfusão controlada de extremidades baseia-se, portanto, nessa hipótese de que, controlando-se a composição e as condições de perfusão da solução que primeiro entra em contato com o endotélio e com os tecidos pós-isquêmicos, há uma diminuição nas lesões de reperfusão provocadas por radicais livres, substâncias pró-inflamatórias, metabólitos tóxicos liberados na acido-se metabólica, etc. Nesse sentido, abre-se ainda um leque de possibilidades, em se considerando o processo isquemia-reperfusão como uma grande reação inflamatória, no sentido de se aperfeiçoarem essas soluções. Além dos trabalhos experimentais acima citados, ensaios clínicos também relataram o sucesso terapêutico dessa abordagem^{59,73,76-80}.

Referências

1. Beyersdorf F, Matheis G, Kruger S, et al. Avoiding reperfusion injury after limb revascularization: experimental observations and recommendations for clinical application. *J Vasc Surg* 1989;9:757-66.
2. Brooks B. Pathologic changes in muscle as a result of disturbances of circulation: an experimental study of Volkmann's ischemic paralysis. *Arch Surg* 1922;5:188-216.
3. Barnes JM, Trueta J. Arterial spasm: an experimental study. *Br J Surg* 1942;30:74-9.
4. Harman JW. The significance of local vascular phenomena in the production of ischemic necrosis in skeletal muscle. *Am J Pathol* 1948;24:625-44.
5. Montagnani CA, Simeone FA. Observations on the liberation and elimination of myohemoglobin and of hemoglobin after release of muscle ischemia. *Surgery* 1953;34:169-85.
6. Middleton DS. The pathology of congenital torticollis. *Br J Surg* 1930;18:188-204.
7. Strock PE, Majno GM. Microvascular changes in acutely ischemic rat muscle. *Surg Gynecol Obstet* 1969;129:1213-24.
8. Jamieson RL. The role of cellular swelling in the pathogenesis of organ ischemia. *World Med J* 1974;3:205-10.
9. Burton AC. On the physical equilibrium of small blood vessels. *Am J Physiol* 1951;164:319-29.
10. Leriche R. Surgery of the sympathetic system: indications and results. *Ann Surg* 1928;88:449-69.
11. Harman JW, Gwinn RP. The recovery of skeletal muscle fibers from acute ischemia as determined by histologic and chemical methods. *Am J Pathol* 1949;25:741-55.
12. Dahlback LO, Rais O. Morphological changes in striated muscle following ischemia: immediate postischemic phase. *Acta Chir Scand* 1966;131(6):430-40.
13. Haimovici H. Arterial embolism with acute massive ischemic myopathy and myoglobinuria. *Surgery* 1960;47:739-47.
14. Cormier JM, Legrain M. L'hyperkaliémie, complication très grave des syndromes d'ischémie aiguë des membres. *J Chir (Paris)* 1962;83:473-88.
15. Fogarty TJ, Daily P, Shumway N, Krippaehne W. Experience with balloon catheter technic for Arterial embolectomy. *Am J Surg* 1997;122:231-7.
16. Bonamigo T. Embolectomias tardias com o uso do cateter de Fogarty [tese de doutorado]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 1972.
17. Haimovici H. Metabolic complications of acute arterial occlusions. *J Cardiovasc Surg* 1979;20:349-57.
18. Burihan E, Ciscato JG, Miranda F Jr, Pepe EVA, Francisco J Jr, Brunialti A Jr. Avaliação crítica de alguns aspectos da embolia arterial. Revisão de 164 embolias, 1969-1978. *Rev Col Bras Cir* 1979;6(5):187-202.
19. Hargens AR, Schmidt DA, Evans CL, et al. Quantitation of skeletal-muscle necrosis in a model compartment syndrome. *J Bone Joint Surg Am* 1981;63(4):631-6.
20. Fisher RD, Fogarty TJ, Morrow AG. Clinical and biochemical observations of the effect of transient femoral artery occlusion in man. *Surgery* 1970;68(2):323-8.
21. Labbe R, Lindsay T, Walker PM. The extent and distribution of skeletal muscle necrosis after graded periods of complete ischemia. *J Vasc Surg* 1987;6:152-7.
22. Presta M, Ragnotti G. Quantification of damage to striated muscle after normothermic or hypothermic ischemia. *Clin Chem* 1981;27:297-302.
23. Harris K, Walker PM, Mickle AG, et al. Metabolic response of skeletal muscle to ischemia. *Am J Physiol* 1986;250(2 Pt 2):H213-20.
24. Korthuis RJ, Granger DN, Townsley MI, Taylor AE. The role of oxygen-derived free radicals in ischemia-induced increases in canine skeletal muscle vascular permeability. *Circ Res* 1985;57:599-609.
25. Smith JK, Carden DL, Grisham MB, Granger DN, Korthuis RJ. Role of iron in postischemic microvascular injury. *Am J Physiol* 1989;256(5 Pt 2):H1472-7.
26. Smith JK, Carden DL, Korthuis RJ. Role of xanthine oxidase in postischemic microvascular injury in skeletal muscle. *Am J Physiol* 1989;257(6 Pt 2):H1782-9.
27. Roberts JP, Perry MO, Hariri RJ, Shires GT. Incomplete recovery of muscle cell function following partial but not complete ischemia. *Circ Shock* 1985;17:253-8.
28. Perry MO, Fantini G. Ischemia: profile of an enemy: reperfusion injury of skeletal muscle. *J Vasc Surg* 1987;6:231-4.
29. Walker PM, Lindsay TF, Labbe R, Mickle DA, Romaschin AD. Salvage of skeletal muscle with free radical scavengers. *J Vasc Surg* 1987;5:68-75.
30. Ratych RE, Chukniyiska RS, Bulkley GB. The primary localization of free radical generation after anoxia/reoxygenation in isolated endothelial cells. *Surgery* 1987;102:122-31.
31. Korthuis RJ, Smith JK, Carden DL. Hypoxic reperfusion attenuates postischemic microvascular injury. *Am J Physiol* 1989;256:H315-9.
32. Lindsay T, Walker PM, Mickle AG, Romaschin AD. Measurement of hydroxy-conjugated dienes after ischemia-reperfusion in canine skeletal muscle. *Am J Physiol* 1988;254(3 Pt 2):H578-83.
33. Granger DN, Rutigli G, McCord JM. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology* 1981;81:22-9.
34. Blebea J, Kerr BA, Shumko JZ, Feinberg RN, Hobson RW 2nd. Quantitative histochemical evaluation of skeletal muscle ischemia and reperfusion injury. *J Surg Res* 1987;43:311-21.
35. Babior BM. Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes. Part I. *N Engl J Med* 1978;298:659-68.
36. Babior BM. Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes. Part II. *N Engl J Med* 1978;298:721-5.
37. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989;320(6):316-76.
38. Karasawa A, Guo JP, Ma XL, Tsao PS, Lefer AM. Protective actions of a leukotriene B4 antagonist in splanchnic ischemia and reperfusion in rats. *Am J Physiol* 1991;261(2 Pt 1):G191-8.
39. Crinnion JN, Homer-Vanniasinkam S, Parkin SM, Gough MJ. Role of neutrophil-endothelial adhesion in skeletal muscle reperfusion. *Br J Surg* 1996;83(2):251-4.
40. Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: An endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:4651-5.
41. Lepore DA, Knight KR, Stewart AG, Riccio M, Morrison WA. Platelet-activating factor (PAF) receptor antagonism by WEB 2170 improves the survival of ischaemic skeletal muscle. *Ann Acad Med Singapore* 1995;24 suppl 4:63-7.
42. Stahl GL, Terashita Z, Lefer AM. Role of platelet activating factor in propagation of cardiac damage during myocardial ischemia. *J Pharmacol Exp Ther* 1988;244(3):898-904.
43. Montrucchio G, Alloati G, Mariano F, et al. Role of platelet-activating factor in the reperfusion injury of rabbit ischemic heart. *Am J Pathol* 1990;137(1):71-83.
44. Rubin BB, Smith A, Liauw S, Isenman D, Romaschin AD, Walker PM. Complement activation and white cell sequestration in post-ischemic skeletal muscle. *Am J Physiol* 1990;259(2 Pt 2):H525-31.
45. Weiser MR, Gibbs SA, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Anti-selectin therapy modifies skeletal muscle ischemia and reperfusion injury. *Shock* 1996;5(6):402-7.
46. Furchgott RF, Carvalho MH, Khan MT, Matsunaga K. Evidence of endothelium-dependent vasodilation of resistance vessels by acetylcholine. *Blood Vessels* 1987;24(3):145-9.

47. Furlong B, Henderson AH, Lewis MJ, Smith JA. Endothelium-derived relaxing factor inhibits in vitro platelet aggregation. *Br J Pharmacol* 1987;90(4):687-92.
48. Gryglewski RJ, Palmer RM, Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature* 1986;320 (6061):454-6.
49. Sato H, Zhao Z-Q, Vinten-Johansen J. L-Arginine inhibits neutrophil adherence and coronary artery dysfunction. *Cardiovasc Res* 1996;31:63-72.
50. Blebea J, Bacik B, Strothman G, Myatt L. Decreased nitric oxide production following extremity ischemia and reperfusion. *Am J Surg* 1996;172(2):158-61.
51. Vaage J, Valen G. Pathophysiology and mediators of ischemia-reperfusion injury with special reference to cardiac surgery. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;41:1-18.
52. Matheis G, Sherman MP, Buckberg GD, Haybron DM, Young HH, Ignarro LJ. Role of L-arginine-nitric oxide pathway in myocardial reoxygenation injury. *Am J Physiol* 1992; 262(2 Pt 2):H616-20.
53. Francischetti I, Maffei FHA, Bitu-Moreno J, et al. Ação do ácido trissódico-cálcio-dietileno-triaminopentaacético (CaNa₃DTPA) nas lesões de isquemia-reperfusão em membro posterior de rato. *Acta Cir Bras* 2002 [no prelo].
54. Bitu-Moreno J, Galbiatti JA, Carvalho Garcia PG, et al. Efeito da vitamina E, da vitamina C e da associação vitamina E – vitamina C na síndrome da isquemia-reperfusão, em membro posterior de rato. *Ver Méd* 1999;78(7):526-35.
55. Bitu-Moreno J, Maffei FHA, Gregório EA. Effect of alpha-tocopherol in the ischemia reperfusion lesions induced in the hindlimb of rats. *Acta Cir Bras* 2001;16(2). Disponível em: <http://www.scielo.br/ach> [acessado em 04 de setembro de 2002].
56. Beyersdorf F, Matheis G, Krüger S, et al. Avoiding reperfusion injury after limb revascularization: experimental observation and recommendations for clinical application. *J Vasc Surg* 1989;9: 757-66.
57. Mitrev Z, Beyersdorf F, Hallmann R, et al. Reperfusion injury in skeletal muscle: controlled limb reperfusion reduces local and systemic complications after prolonged ischaemia. *Cardiovasc Surg* 1994;2:737-48.
58. Beyersdorf F, Mitrev Z, Ihnken K, et al. Controlled limb reperfusion in patients having cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;111(4):873-81.
59. Schlensak C, Doenst T, Bitu-Moreno J, Beyersdorf F. Controlled limb reperfusion with a simplified perfusion system. *Thorac Cardiovasc Surg* 2000;48: 274-8.
60. Baker CJ, Longoria J, Gode PV. Addition of a water-soluble alpha-tocopherol analogue to University of Wisconsin solution improves endothelial viability and decreases lung reperfusion injury. *J Surg Res* 1999;86(1):145-9
61. Beaulieu C, Busch E, Röther J, de Crespigny A, Hsia CJ, Moseley ME. Polynitroxyl albumin reduces infarct size in transient focal ischemia in the rat: potential mechanisms studied by magnetic resonance imaging. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998;18:1022-31.
62. Martin J, Lutter G, Sarai K, et al. Investigations on the new free radical scavenger polynitroxyl-albumin to prevent ischemia and reperfusion injury after orthotopic heart transplantation in the pig model. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001;19:321-5.
63. Ceconi C, Cargnoni A, Pasini E, Condorelli E, Curello S, Ferrari R. Evaluation of phospholipid peroxidation as malondialdehyde during myocardial ischemia and reperfusion injury. *Am J Physiol* 1991; 260(4 Pt 2):H1057-61.
64. Belkin S, Mehlhorn RJ, Hideg K, Hankovsky O, Packer L. Reduction and destruction rates of nitroxide spin probes. *Arch Biochem Biophys* 1987;256:232-43.
65. Mitchell JB, Samuni A, Krishna CM, et al. Biologically active metal-independent superoxide dismutase mimics. *Biochemistry* 1990;29:2802-7.
66. Samuni A, Krishna CM, Mitchell JB, Collins CR, Russo A. Superoxide reaction with nitroxides. *Free Radic Res Commun* 1990;9:241-9.
67. Crestanello JA, Lingle DM, Milili J, Whitman GJ. Pyruvate improves myocardial tolerance to reperfusion injury by acting as an antioxidant: a chemiluminescence study. *Surgery* 1998; 124(1):92-9.
68. Kerr PM, Suleiman MS, Hulestap AP. Reversal of permeability transition during recovery of hearts from ischemia and its enhancement by pyruvate. *Am J Physiol* 1999;276(2): H496-502.
69. Akimitsu T, White JA, Carden DL, Gute DC, Korthuis RJ. Fructose-1,6 diphosphate or adenosine attenuate leukocyte adherence in post ischemic skeletal muscle. *Am J Physiol* 1995;269(5):H1743-51.
70. Papanastasiou S, Estdale SE, Homer-Vanniasinkam S, Mathie RT. Protective effect of preconditioning and adenosine pretreatment in experimental skeletal muscle reperfusion injury. *Br J Surg* 1999;86(7):916-22.
71. Pang CY, Forrest CR. Acute pharmacologic preconditioning as new concept for prevention of skeletal muscle ischemic necrosis. *Biochem Pharmacol* 1995;49(8):1023-4.
72. Lee SL, Pevec WC, Carlsen RC. Functional outcome of new blood vessel growth into ischemic skeletal muscle. *J Vasc Surg* 2001;34(6):1096-102.
73. Allen BS, Okamoto F, Buckberg GD, et al. Immediate functional recovery after 6 hours of regional ischemia by careful control of conditions of reperfusion and composition of reperfusate. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986;92(3 Pt 2): 621-35.
74. Thourani VH, Nakamura M, Duarte IG, et al. Ischemic preconditioning attenuates postischemic coronary artery endothelial dysfunction in a model of minimally invasive direct coronary bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999;117:383-9.
75. Kharbada RK, Peters M, Walton B, et al. Ischemic preconditioning prevents endothelial injury and systemic activation during ischemia-reperfusion in humans in vivo. *Circulation* 2001;103(12):1624-30.
76. Vogt PR, von Segesser LK, Pagotto E, Lijovic T, Turina ML. Simplified, controlled limb reperfusion and simultaneous revascularization for acute aortic occlusion. *J Vasc Surg* 1996;23(4):730-3.
77. Hata M, Yamaya K, Sadahiro M, et al. A case report: successful treatment of acute type B aortic dissection with renal and leg ischemia. *Kyobu Geka* 1997;50(9):763-6.
78. Defraigne JO, Pincemail J, Laroche C, Blaffart F, Limet R. Successful controlled limb reperfusion after severe prolonged ischemia. *J Vasc Surg* 1997;26(2):346-50.
79. Ihnken K, Wilhirt S, Ihnken O, et al. Skeletal muscle reperfusion injury: reversal by controlled limb reperfusion – a case report. *J Vasc Surg* 2001;35(2):149-55.
80. Bitu-Moreno J, Beyersdorf F, Schlensak C, Francischetti I, Dern P, Doenst T. Reperfusão controlada de membros inferiores com um sistema simplificado de perfusão. *Rev Angiol Cir Vasc* 2002;11(1):23-9.

Correspondência:

José Bitu-Moreno

Pça. Athos Fragata, 25/502

CEP 17501-220 – Marília – SP

E-mail: jbmoreno@famema.br