

**MODELO EXPERIMENTAL DE PERFUSÃO CARDÍACA EX VIVO****EX VIVO HEART PERFUSION EXPERIMENTAL MODEL**Valdir Assis dos Reis Filho¹

e24125

<https://doi.org/10.53612/recisatec.v2i4.125>

PUBLICADO: 04/2022

RESUMO

Diversos sistemas de perfusão de órgãos isolados foram desenvolvidos e implantados na prática de transplante, tendo como principal finalidade a manutenção da estabilidade dos enxertos por tempos prolongados. A perfusão *ex vivo* oferece aparatos para preservar o tecido cardíaco, manter os impulsos elétricos e estabelecer um estado metabólico adequado. Novas técnicas de preservação precisam ser discutidas e apresentadas, no sentido de ampliar perspectivas futuras para melhorar a proteção miocárdica no contexto do transplante cardíaco.

PALAVRAS-CHAVE: Transplante cardíaco. Preservação de enxerto. Perfusão *ex vivo*. Coração isolado.

ABSTRACT

Isolated organs perfusion systems have been developed and implanted in the transplantation practice, the principal objective is maintaining the stability of the grafts for prolonged times. Ex vivo perfusion provide to preserve cardiac tissue, maintain electrical impulses and establish an adequate metabolic state. New preservation techniques need to be discussed and presented, in order to expand future perspectives to improve myocardial protection in the context of heart transplantation.

KEYWORDS: Cardiac transplant. Graft preservation. Ex vivo perfusion. Isolated heart

INTRODUÇÃO

O transplante cardíaco é a intervenção de escolha para indivíduos com insuficiência cardíaca (IC) refratária. Entre as indicações estão; IC avançada na dependência de drogas inotrópicas e/ou suporte circulatório mecânico, doença isquêmica com angina refratária sem possibilidade de revascularização e tumores cardíacos com potencial de cura pelo explante do coração. (BOCCHI et al., 2012; BACAL et al., 2018).

A preservação do enxerto cardíaco é feita utilizando técnicas de hipotermia contínua e infusão de solução cardioplégica. Essas estratégias possibilitam a redução da atividade metabólica do músculo cardíaco e a manutenção das condições bioquímicas das células. O tempo de preservação estabelecido é em torno de 4 horas, embora existam situações em que limites maiores possam ser tolerados, todavia, técnicas de isquemia com períodos longos não demonstram eficácia na proteção do órgão (BACAL et al., 2018; DINKHUYSEN et al., 2011; MESSER et al., 2014).

A técnica de perfusão isolada oferece aparatos para preservar o tecido cardíaco, manter os impulsos elétricos e estabelecer um estado metabólico adequado para promover a integridade celular. A perfusão *ex vivo* conserva o pH tecidual, mantém o armazenamento de ATP e demonstra rápida

¹ Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo
RECISATEC - REVISTA CIENTÍFICA SAÚDE E TECNOLOGIA

RECISATEC – REVISTA CIENTÍFICA SAÚDE E TECNOLOGIA ISSN 2763-8405

MODELO EXPERIMENTAL DE PERFUSÃO CARDÍACA *EX VIVO*
Valdir Assis dos Reis Filho

recuperação das funções cardíacas se comparada as atuais técnicas utilizadas para preservação de enxertos (COLLINS et al., 2008; WHITE et al., 2015).

É sugestivo que novas técnicas de preservação sejam discutidas e apresentadas, no sentido de ampliar perspectivas futuras para melhorar a proteção miocárdica no contexto do transplante cardíaco, o que levaria à possível inclusão de órgãos inicialmente descartados (COLLINS et al., 2008). A elaboração de um modelo experimental de perfusão isolada *ex vivo* surge como compreensão do real impacto desse sistema no cotidiano do procedimento de transplante. Esse método é pouco conhecido nos serviços brasileiros devido ao alto custo, falta de pesquisa e baixa disponibilidade de aparelhos.

TÉCNICAS DE PRESERVAÇÃO DO ENXERTO CARDÍACO

A 3ª Diretriz Brasileira de Transplante Cardíaco sugere que; a isquemia fria do enxerto tenha um tempo inferior a 4 horas. Evidências demonstram que a disfunção do enxerto pós-transplante está estritamente relacionado ao prolongado tempo de isquemia, todavia, o inadequado manejo do doador assim como, lesão de isquemia-reperusão e má proteção do miocárdio, favoreçam a falência do órgão. Não existe um consenso definido para a melhor técnica de proteção, no entanto, a ótima preservação pode diminuir tanto a necessidade de suporte inotrópico quanto o índice de morbimortalidade no pós-operatório. O Quadro 1 resume algumas recomendações para o processo de captação do órgão (BACAL et al., 2018).

Quadro 1- Recomendações da 3ª Diretriz Brasileira de Transplante Cardíaco para preservação de enxertos

Recomendação
Ações que minimizem o tempo de isquemia do órgão a períodos inferiores a 4 horas
Infusão de solução cardioplégica fria
Transporte do órgão em ambiente estéril preenchido por solução de preservação e em hipotermia
Manutenção da temperatura do órgão em 4°C

Hipotermia

A hipotermia miocárdica leva a redução do consumo de oxigênio devido à diminuição da taxa metabólica, e, tem por finalidade alongar a tolerância do tecido à hipóxia, o que proporciona a preservação o músculo cardíaco. O consumo de oxigênio diminui de acordo com a redução da temperatura, reduzindo esse consumo em 6% para cada grau baixado. Além do mais, a hipotermia reduz a peroxidação lipídica, torna menor a produção de radicais livres, proporciona a elevação da proteína anti-apoptótica e preserva as reservas celulares de ATP (MALBOUISSON, 2005).

RECISATEC – REVISTA CIENTÍFICA SAÚDE E TECNOLOGIA ISSN 2763-8405

MODELO EXPERIMENTAL DE PERFUSÃO CARDÍACA *EX VIVO*
Valdir Assis dos Reis Filho

Apesar do efeito cardioprotetor relacionado à redução da temperatura, a longa duração promove efeitos deletérios sobre o músculo cardíaco. O aumento de tempo pode intensificar a sobrecarga de cálcio intracelular, distúrbios eletrolíticos, taquicardia, coagulopatias e imunossupressão (MALBOUISSON, 2005).

Solução cardioplégica

A cardioplegia é uma solução rica em potássio capaz de produzir parada da atividade elétrica e mecânica do músculo cardíaco, a administração dessa solução é feita diretamente na circulação coronariana, pela raiz da aorta ou nos óstios coronários. A hiperpotassemia causa despolarização da membrana o que leva a assistolia, permanecendo assim enquanto houver elevada concentração de potássio extracelular (SOUZA; ELIAS, 2006). Isso diminui o surgimento de acidose intracelular, que é resultado do metabolismo anaeróbico durante a isquemia (O'BLENES et al., 2011).

De modo geral as soluções cardioplégicas contêm em sua composição; potássio e magnésio que induzem a parada diastólica do músculo cardíaco, sódio para manter a solução hipertônica e bicarbonato de sódio para promover o reparo do pH (SOUZA; ELIAS, 2006). A solução deve proporcionar: imediata parada cardíaca, proteção miocárdica, reversibilidade e baixa toxicidade. Para obter esses desfechos, a cardioplegia depende da parada metabólica associada à hipotermia (OLIVEIRA et al., 2014; MATTE; DEL NIDO, 2012).

PERFUSÃO DO CORAÇÃO ISOLADO

A técnica de perfusão isolada proporcionou avanços nas pesquisas da fisiologia cardíaca, e o modelo sugerido por Langendorff permanece como a técnica proeminente no estudo do coração. Em 1895 Oscar Langendorff propôs um modelo para reperfusão com fluxo retrógrado em coração isolado de mamíferos, o conceito do método constitui em manter a atividade do miocárdio através da perfusão de uma solução por uma cânula posicionada na aorta de forma retrograda, a força exercida pelo líquido fecha a válvula aórtica e, dessa maneira, faz com que a solução entre no óstios coronários. O fluxo passa então, pelo músculo, sendo devolvido ao interior do coração pelo seio coronário diretamente ao átrio direito (LANGENDORFF, 1895; BELL et al., 2011).

A perfusão de Langendorff apresenta vantagens, pois, sua aplicabilidade se estende aos mais diversos mamíferos tais como: ratos, coelhos, cachorros, porcos, primatas e humanos. O método mostra-se como uma ferramenta de grande importância para pesquisas da função elétrica do músculo cardíaco, investigações patológicas, farmacológicas, bioquímicas e metabólicas (BELL et al., 2011).

DISPOSITIVOS DE TRANSPORTE DE ENXERTOS

Diversos sistemas de perfusão de órgãos isolados foram desenvolvidos e implantados na prática de transplante, com a finalidade de manter a estabilidade dos enxertos (VAN RAEMDONCK et al., 2013). Esses dispositivos promovem a reanimação *ex vivo*, mantêm a perfusão em condições próximas do fisiológico, removem produtos metabólicos tóxicos e permitem o reestabelecimento da função do órgão (CIUBOTARU; HAVERICH, 2015).



RECISATEC – REVISTA CIENTÍFICA SAÚDE E TECNOLOGIA ISSN 2763-8405

MODELO EXPERIMENTAL DE PERFUSÃO CARDÍACA *EX VIVO*
Valdir Assis dos Reis Filho

Os dispositivos portáteis de transporte de órgãos foram desenvolvidos com a finalidade de preservar os enxertos por tempos prolongados. O *Organ Care System* (OCS) (TransMedics, Andover, EUA) é um dos sistemas elaborados para condicionar aloenxertos pulmonares e cardíacos, e tem por intuito promover a melhora das condições mecânicas desses tecidos (SOUILAMAS, 2011).

Ao que se refere ao transplante cardíaco, o OCS utiliza uma bomba de fluxo pulsátil diafragmática capaz de bombear o perfusato sanguíneo rico em insulina, antibióticos, bicarbonato de sódio e vitaminas à artéria aorta, seguindo a mesma didática de Langendorff de fluxo retrógrado (TSUKASHITA, 2015).

DISPOSITIVO EXPERIMENTAL DE PERFUSÃO CARDÍACA *EX VIVO*

Devem ser executados experimentos *ex vivo* em modelo animal, onde o metabolismo do órgão seja restaurado com uma solução sanguínea normotérmica oxigenada. A montagem do circuito é baseada no princípio de perfusão isolada.

O diagrama esquemático do equipamento experimental é composto por reservatório sanguíneo, bomba centrífuga, permutador de calor, oxigenador de membrana, leitor de fluxo e cânulas. (PELGRIM et al., 2015; LI et al., 2017).

A proposta é elaborar um modelo que siga este padrão: o sangue é drenado de um reservatório até chegar ao átrio direito, passando pelo ventrículo e sendo ejetado pela artéria pulmonar. De lá passa por uma câmara de complacência, sendo levado na sequência ao oxigenador de membrana por uma bomba centrífuga. O sangue então é aquecido, oxigenado, devolvido ao átrio esquerdo e ejetado pela aorta de onde passa novamente por uma câmara de complacência, na saída da câmara é preciso ter um torniquete de ajuste de fluxo para simular a resistência vascular, depois de passar pelo torniquete de resistência o sangue chega ao reservatório (Figura 1). O fluxo do dispositivo tenta simular a circulação cardíaca fisiológica, devendo ser posicionadas cânulas nas artérias aorta e pulmonar, e outras demais cânulas no átrio esquerdo e direito (Figura 2).

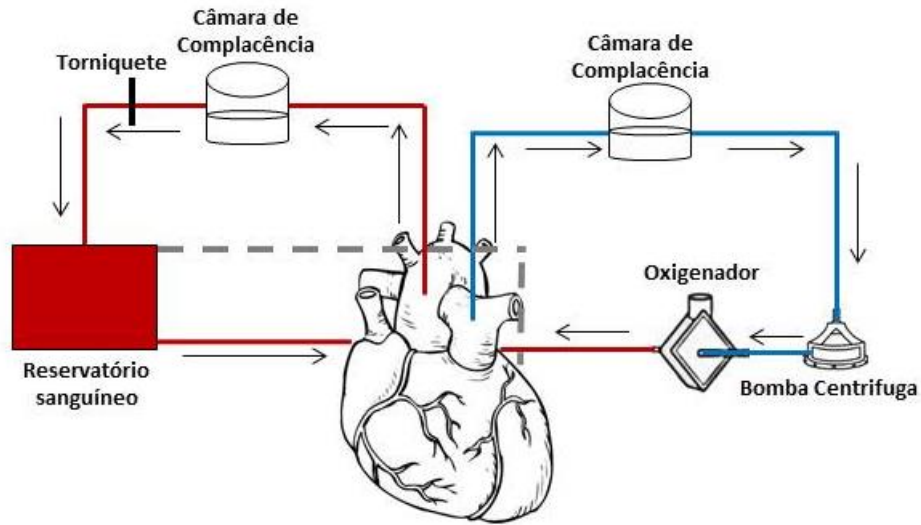


Figura 1: Visão esquemática da proposta técnica de perfusão cardíaca *ex vivo*.

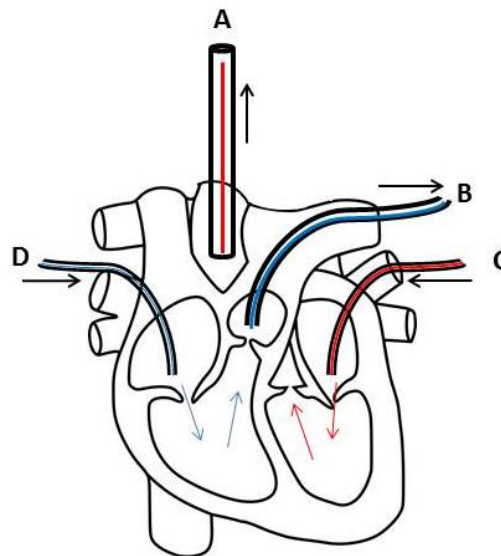


Figura 2: Representação do fluxo sanguíneo gerado pelo dispositivo no enxerto cardíaco. **A:** Cânulação aórtica; **B:** Cânula da artéria pulmonar; **C:** Cânulação do átrio esquerdo. **D:** Cânula na veia cava átrio direito

Obtenção, preparação do enxerto cardíaco e procedimento cirúrgico

Enxertos cardíacos porcino podem ser utilizados, a coleta do material precisa estar de acordo com as normas estabelecidas pelos órgãos competentes à utilização de animais em pesquisas.

Para o procedimento cirúrgico, os animais devem ser submetidos à anestesia, com intubação endotraqueal e ventilação controlada. Uma esternotomia mediana é realizada, seguida de

RECISATEC – REVISTA CIENTÍFICA SAÚDE E TECNOLOGIA ISSN 2763-8405

MODELO EXPERIMENTAL DE PERFUSÃO CARDÍACA *EX VIVO*
Valdir Assis dos Reis Filho

heparinização administrada por via intravenosa ou diretamente no atrio direito. É preciso registrar os parametros hemodinâmicos basais do animal antes do explante do órgão, seguido de amostras sanguíneas para exames laboratoriais e biópsia para análise histopatológica.

Deve ser coletado e armazenado em um reservatório o sangue do animal para servir como prime de preenchimento do sistema. Um clampeamento aórtico se faz necessário acompanhado da infusão da solução de cardioplegia fria (1^o-4^o) em pressão controlada diretamente na raiz da aorta. O enxerto então é colocado em solução de conservação gelada, onde permanecerá sob essas condições até a ressucitação do órgão. Posteriormente a aorta, arteria pulmonar, veia cava e átrio esquerdo serão canulados. (XIN et al., 2017; ABICHT, 2018).

Preparação do sistema de perfusão

A preparação do sistema é feita com o sangue autólogo coletado, o hematócrito (Ht) e hemoglobina (Hb) são ajustados para valores referenciais. Com o prime circulando no sistema, os parâmetros de oxigenação são mantidos para possibilitar uma PO₂ entre 100-200 mmHg e o fluxo de gás manipulado para manter uma PCO₂ entre 35-45 mmHg.

No início do procedimento os ventrículos são preenchidos de forma gradual, o ventrículo esquerdo (VE) é preenchido através de uma linha que será clampeada subsequentemente. O reservatório sanguíneo fica elevado para a pressão no átrio direito atingir 6mmHg, dessa maneira o sangue enche o ventrículo direito (VD) sendo depois ejetado pela artéria pulmonar para o oxigenador de membrana onde ocorrerá a troca gasosa e o aquecimento pelo permutador de calor. Uma câmara de complacência amortece o pulso de pressão do coração do lado direito. O fluxo sanguíneo consegue superar a barreira da membrana de oxigenação pela bomba centrifuga que exercesse força sobre a resistência do oxigenador. O sangue oxigenado que entra no átrio esquerdo é ejetado pelo ventrículo e passa por uma câmara de complacência e por um torniquete ajustável, voltando dessa forma ao reservatório sanguíneo.

Parâmetros mensurados

Dados hemodinâmicos, frequência cardíaca (FC) e ECG são monitorizados de forma contínua, a leitura do fluxo nas linhas do circuito é realizada por um sensor ultrassônico. A resistência vascular, volume sistólico, índice cardíaco e o fluxo coronariano são calculados. Amostras sanguíneas precisam ser coletadas em intervalos de tempos específicos, sendo analisadas em um aparelho automático que meça a concentração dos parâmetros de: PO₂ (80 – 100mmHg), PCO₂ (35 – 40mmHg), PH (7.38 – 7.44), SO₂ (95.0 – 99.0%), BE (-3.0 – 3.0), HCO₃ (22.0 – 26.0mEq/L), além das análises de lactato, glicose, potássio, hemoglobina e hematócrito.

O experimento é conduzido até ocorrer a falência cardíaca (definido como pressão sistólica do VE consistentemente <25 mmHg ou arritmia intratável, ou perda da contração ventricular (parada cardíaca), ou até atingir 10 horas de perfusão isolada. Finalizado o procedimento, o coração então é desconectado do circuito, drenado e pesado, posteriormente amostras histológicas são coletadas.



RECISATEC – REVISTA CIENTÍFICA SAÚDE E TECNOLOGIA ISSN 2763-8405

MODELO EXPERIMENTAL DE PERFUSÃO CARDÍACA *EX VIVO*
Valdir Assis dos Reis Filho

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É imprescindível desenvolver novas técnicas que possam aprimorar a preservação de enxertos cardíacos para transplantes. A sugestão de um sistema para o condicionamento do coração isolado é apresentada neste artigo, que tem como principal finalidade auxiliar em pesquisas futuras relacionadas à temática apresentada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BACAL, F. *et al.* 3ª Diretriz Brasileira de Transplante Cardíaco. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 111, n. 2, p. 230-289, ago. 2018.

BELL, R. M.; MOCANU, M. M.; YELLON, D. M. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion. **J. Mol. Cell. Cardiol.**, v. 50, n. 6, p. 940-50, 2011.

BOCCHI, E. A. *et al.* Atualização da diretriz brasileira de insuficiência cardíaca crônica - 2012. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 98, n. 1, supl. 1, p. 1-33, 2012.

CAMP, P. C. Heart transplantation: donor operation for heart and lung transplantation. **Oper. Tech. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v. 15, n. 2, p. 125-37, 2010.

CHAVES, L. N. F.; CARLOS, D. M. O. Estado nutricional e qualidade de vida de pacientes candidatos a transplante cardíaco. **Rev. Bras. Promoç. Saúde.**, Fortaleza, v. 31, n. 1, p. 1-13, 2018.

CIUBOTARU, A.; HAVERICH, A. Ex vivo Approach to Treat Failing Organs: Expanding the Limits. **Eur. Surg. Res.**, v. 54, p. 64-74, 2015.

COLLINS, M. J.; MOAINIE, S. L.; GRIFFITH, B. P.; POSTON, R. S. Preserving and evaluating hearts with ex vivo machine perfusion: an avenue to improve early graft performance and expand the donor pool. **Eur. J. Cardiothorac. Surg.**, v. 34, n. 2, p. 318-325, 2008.

DINKHUYSEN, J. J. *et al.* "Non Working Beating Heart": novo método de proteção miocárdica no transplante cardíaco. **Rev. Bras. Cir. Cardiovasc.**, São José do Rio Preto, v. 26, n. 4, p. 630-634, dez. 2011.

LANGENDORFF, O. Untersuchungen am uberlebenden Säugethierherze. **Pflügers Arch.**, v. 61, n. 6, p. 291–332, 1895.

MALBOUISSON, L. M. S.; SANTOS, L. M.; AULER Jr, J. O. C.; CARMONA, M. J. C. Proteção miocárdica em cirurgia cardíaca. **Rev. Bras. Anesthesiol.**, Rio de Janeiro, v. 55, n. 5, p. 575-585, 2005.

MATTE, G. S.; DEL NIDO, P. J. History and use of del Nido cardioplegia solution at Boston Children's hospital. **J. Extra. Corpor. Technol.**, v. 44, n. 3, p. 98-103, 2012.

MESSER, S.; ARDEHALI, A.; TSUI, S. Normothermic donor heart perfusion: current clinical experience and the future. **Transpl. Int.**, v. 28, n. 6, p. 634-642, 2014.

O'BLENES, S. B.; FRIESEN, C. H.; ALI, A.; HOWLETT, S. Protecting the aged heart during cardiac surgery: The potential benefits of del Nido cardioplegia. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v. 141, n. 3, p. 762–769, 2011.



RECISATEC – REVISTA CIENTÍFICA SAÚDE E TECNOLOGIA ISSN 2763-8405

MODELO EXPERIMENTAL DE PERFUSÃO CARDÍACA *EX VIVO*
Valdir Assis dos Reis Filho

OLIVEIRA, M. A. B.; BRANDI, A. C.; SANTOS, C. A. et al. Modalidades de parada cardíaca induzida: hipercalcemia e hipocalcemia - revisão de literatura. **Rev. Bras. Cir. Cardiovasc.**, São José do Rio Preto, v. 29, n. 3, p. 432-436, set. 2014.

PELGRIM, G. J.; DAS, M.; HABERLAND, U. et al. Development of an ex vivo, beating heart model for CT myocardial perfusion. **BioMed. Res. Int.**, p. 1-8, 2015.

SOUILAMAS, R.; SOUILAMAS, J. I.; SAUERESSIG, M.; BRIOT, R. Advanced normothermic ex vivo lung maintenance using the mobile Organ Care System. **J. Heart. Lung. Transplant.**, v. 30, n. 7, p. 847-848, 2011.

SOUZA, M. H. L.; ELIAS, D. O. **Fundamentos da Circulação Extracorpórea**. 2. ed. Rio de Janeiro: Alfa Rio, 2006.

TSUKASHITA, M.; NAKA, Y. Organ care system for heart procurement and strategies to reduce primary graft failure after heart transplant. **Oper. Tech. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v. 20, n. 3, p. 322-334, 2015.

VAN RAEMDONCK, D.; NEYRINCK, A. et al. Machine perfusion in organ transplantation: a tool for ex-vivo graft conditioning with mesenchymal stem cells? **Curr. Opin. Organ. Transplant.**, v. 18, n. 1, p. 24-33, 2013.

WHITE, C. W.; AMBROSE, E.; MULLER, A.; LI, Y.; LE, H.; HIEBERT, B. et al. Assessment of donor heart viability during ex vivo heart perfusion. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 93, n. 10, p. 893-901, 2015.