

## Cirugía y Cirujanos

Volumen **72**  
Volume

Número **1**  
Number

Enero-Febrero **2004**  
January-February

*Artículo:*

### Hallazgos estructurales durante la preservación miocárdica con solución HTK

Derechos reservados, Copyright © 2004:  
Academia Mexicana de Cirugía

Otras secciones de  
este sitio:

-  [Índice de este número](#)
-  [Más revistas](#)
-  [Búsqueda](#)

*Others sections in  
this web site:*

-  [Contents of this number](#)
-  [More journals](#)
-  [Search](#)



Medigraphic.com

# Hallazgos estructurales durante la preservación miocárdica con solución HTK

Acad. Dr. Rubén Argüero-Sánchez,\* Dr. Armando Mansilla-Olivares,\*\* Dra. María de la Luz M-Rosales\*\*\*

## Resumen

Aun cuando los avances científicos desarrollados en el campo de la protección miocárdica han mejorado los resultados de la cirugía cardíaca, la circulación extracorpórea continúa enfrentando graves problemas clínicos durante y después de la reperfusión. Con esta inquietud, se decidió observar las alteraciones que presentan las células del endotelio capilar y las terminaciones nerviosas después de la derivación cardiopulmonar. Mediante microscopía electrónica se analizaron las biopsias de muestras de la aurícula derecha, que se obtuvieron antes y después de la cardioplejía con solución Bretschneider, de cuatro pacientes con estenosis mitral sometidos a implante valvular. Las muestras obtenidas después de la derivación cardiopulmonar mostraron desprendimiento de la membrana basal de los capilares miocárdicos, edema endotelial y destrucción de las terminaciones nerviosas. Estas alteraciones parecen demostrar que aun con el efecto protector de las soluciones de cardioplejía, el edema endotelial y la destrucción neuronal no pueden evitarse. Posiblemente esto dependa de la baja concentración de  $\text{Na}^+$  intersticial que activa al intercambiador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ , así como al influjo de  $\text{Ca}^{++}$  que se presenta durante la isquemia-reperfusión, provocando daño neuronal y endotelial y alteraciones en la contractilidad miocárdica. Este fenómeno explica algunos de los problemas clínicos que los pacientes enfrentan durante el postoperatorio inmediato.

**Palabras clave:** endotelio, hemorreología, soluciones de cardioplejía, cardioprotección, efectos secundarios a la derivación cardiopulmonar.

## Summary

Although the majority of recent scientific advances developed in the field of myocardial preservation have improved surgery procedures, it seems that during cardiothoracic surgery ischemia-reperfusion continues triggering clinical postoperative problems. This report focused on the changes human capillary endothelial cells and nerve endings suffer after cardiopulmonary bypass.

The study involved four patients who received Bretschneider solution for cardioplegia during mitral stenosis surgery. Biopsies of right atrium were taken prior to and after CPB to be analyzed under electron microscopy. Samples taken after CPB showed detachment of myocardial capillary basal membrane, endothelial edema, and widespread nerve-ending destruction. Nevertheless, the shelter provided by the most advanced cardioplegic solutions, myocardial endothelial edema, and nerve-ending destruction cannot be completely prevented. Thus, it is possible to suggest that low interstitial concentration of  $\text{Na}^+$ , which activates  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$  exchanger, and inflow of  $\text{Ca}^{++}$ , present during ischemia-reperfusion, may lead to endothelial and neuronal cell damage, triggering cardiac contraction dysfunction. This mechanism would explain at least in part some of the problems patients face during the postoperative state.

**Key words:** Endothelium, Hemorrhology, Cardioplegia solutions, Cardio-Protection, Cardiopulmonary bypass side effects.

\* Profesor de Cirugía Cardiorácica, Cirujano Cardiorácico, Maestro en Ciencias, Director del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social.

\*\* Profesor de Bioquímica y Farmacología, Internista, Doctor en Neurociencia, Jefe de la Unidad de Investigación Biomolecular del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social.

\*\*\* Profesora de Microscopía Electrónica, Universidad Nacional Autónoma de México, Unidad de Investigación Biomolecular del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social.

### Solicitud de sobretiros:

Dr. Armando Mansilla-Olivares,  
Jefatura de la Unidad de Investigación Biomolecular,  
Hospital de Cardiología, Centro Médico Nacional Siglo XXI,  
Av. Cuauhtémoc 330, México 06720, D. F.

Recibido para publicación: 03-12-2003.

Aceptado para publicación: 19-01-2004.

## Introducción

Durante la última década se han publicado números estudios sobre la fisiología del endotelio y su relación con diferentes estados patológicos<sup>(1-3)</sup>. Sin embargo, a pesar de los avances en el conocimiento de esta área y del enorme desarrollo de las técnicas de derivación cardiopulmonar, la respuesta inflamatoria de las células endoteliales y la repercusión clínica que este fenómeno genera no han podido ser del todo controladas<sup>(4,5)</sup>. Al parecer, la exposición de la sangre a superficies ajenas al endotelio vascular, la interfase sangre/aire y la formación de complejos heparina-protamina, son los mecanismos detonantes de la cascada del proceso inflamatorio<sup>(6)</sup>.

Siempre que un paciente es expuesto a cirugía cardiorácica y derivación cardiopulmonar, el paro cardiocirculatorio produce isquemia cardíaca global y como resultado provoca un fenómeno de isquemia-reperfusión justo cuando se

restablece la circulación<sup>(7-9)</sup>. Aun con el uso de soluciones para la protección miocárdica durante la cardioplejía, el daño provocado por el fenómeno isquemia-reperusión desencadena severos problemas en el paciente durante el postoperatorio inmediato. De hecho, los reportes en la literatura universal acerca del posible efecto protector miocárdico de estas soluciones durante la cardioplejía son contradictorios<sup>(1,2,10-12)</sup>. Algunas investigaciones realizadas en animales de laboratorio sometidos a derivación cardiopulmonar y a distintas soluciones de cardioplejía, ponen en discusión la capacidad de estas sustancias para limitar la magnitud del daño miocárdico, que puede ir desde la deshidratación celular hasta la destrucción tisular<sup>(1,5,10,13,14)</sup>.

En el presente estudio se informan las alteraciones encontradas en las terminaciones nerviosas y las células endoteliales de los capilares miocárdicos, en individuos sometidos al procedimiento habitual de derivación cardiopulmonar.

## Material y métodos

Una vez obtenido el consentimiento previa explicación clara y detallada, se estudiaron cuatro pacientes sometidos a cirugía cardiotorácica por diagnóstico de estenosis mitral por cardiopatía reumática inactiva.

Después del pinzamiento aórtico, a través de una cánula de cardioplejía en dirección anterógrada fueron prefundidos 3,800 ml de solución Bretschneider de histidina-triptófano-cetoglutarato (HTK) (custodiol<sup>TM</sup>) a una temperatura entre 4 y 6°C, durante seis o siete minutos, aspirando simultáneamente del seno coronario, el remanente de la solución. Las muestras para biopsia se obtuvieron antes y después de la derivación cardiopulmonar de la región contigua al orificio de entrada del catéter de retorno venoso a la aurícula derecha, para analizarlas posteriormente mediante microscopía electrónica.

El tejido se fijó de inmediato en glutaraldehído con 2.5% de cacodilatos a un pH de 7.4 durante 5 horas. Después de lavar y someter las muestras a la acción de tetraóxido de osmio a 1% durante una hora, se lavaron nuevamente y se deshidrataron en alcohol etílico a concentración creciente. Cada una se sumergió en resina epóxica (epon 812), se polimerizó en estufa a 70°C y se realizaron cortes ultrafinos mediante el ultramicrotomo Reichert-Jung (ultracut E). Los cortes se analizaron mediante un microscopio electrónico Zeiss 900.

## Resultados

Se estudiaron cuatro pacientes con edad promedio de 35 años, dos del sexo femenino y dos del masculino, con diagnóstico de estenosis mitral reumática, que fueron sometidos a cirugía cardiotorácica para implante de prótesis mitral. La derivación cardiopulmonar tuvo una duración de 64, 61, 53 y 46 minutos, con un pinzamiento aórtico de 56, 50, 35 y 28

minutos respectivamente. El postoperatorio de todos los pacientes transcurrió sin complicaciones.

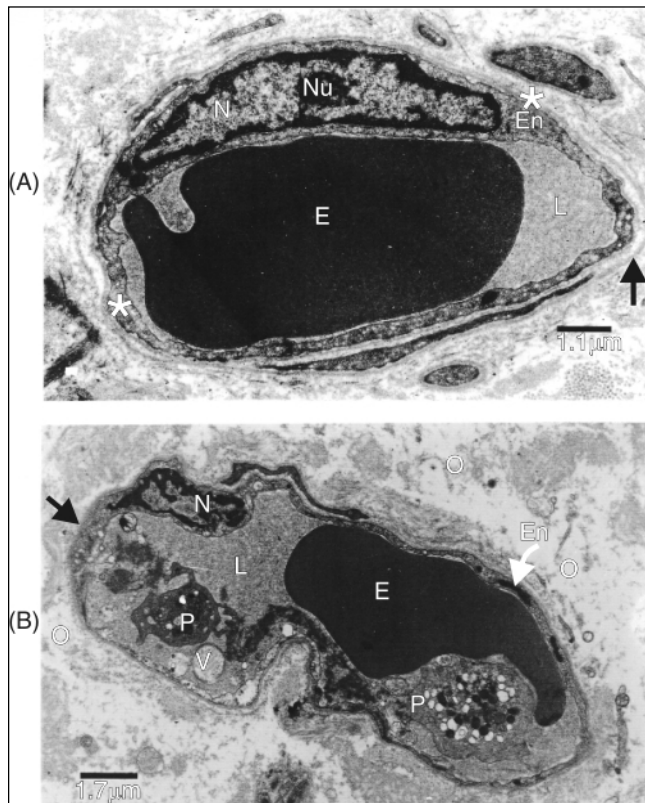
El resultado del análisis de las biopsias bajo microscopía electrónica demostró, al comparar las muestras antes y después del procedimiento, que el tejido que había presentado isquemia-reperusión mostraba diferencias significativas respecto a las condiciones basales. Las lesiones residuales consistieron en edema endotelial con vacuolización y fenestración, y desprendimiento de la membrana basal del endotelio capilar (Figuras 1 y 2). En los núcleos de las células endoteliales se observó picnosis, así como diversas indentaciones y fenestraciones sobre toda su superficie. También se encontraron severos cambios ultraestructurales en las extensiones neuronales que alcanzaban a los vasos sanguíneos, con edema periaxonal, destrucción difusa de sus terminaciones y desorganización neurofibrilar con pérdida de la periodicidad de las capas de mielina (Figura 3).

## Discusión

En los últimos años se ha considerado a la solución de preservación HTK como una de las más útiles y difundidas en el medio, ya que en comparación con otras soluciones, la incidencia y prevalencia de complicaciones durante el postoperatorio inmediato disminuyen significativamente<sup>(7,15,16)</sup>. Además, esta solución tiene la ventaja de permitir la preservación a largo plazo de órganos como el riñón, el hígado y el corazón, estabiliza el pH intracelular al contrarrestar a los protones del medio gracias a la función *buffer* que le confiere su contenido en aminoácidos<sup>(7,17-19)</sup>.

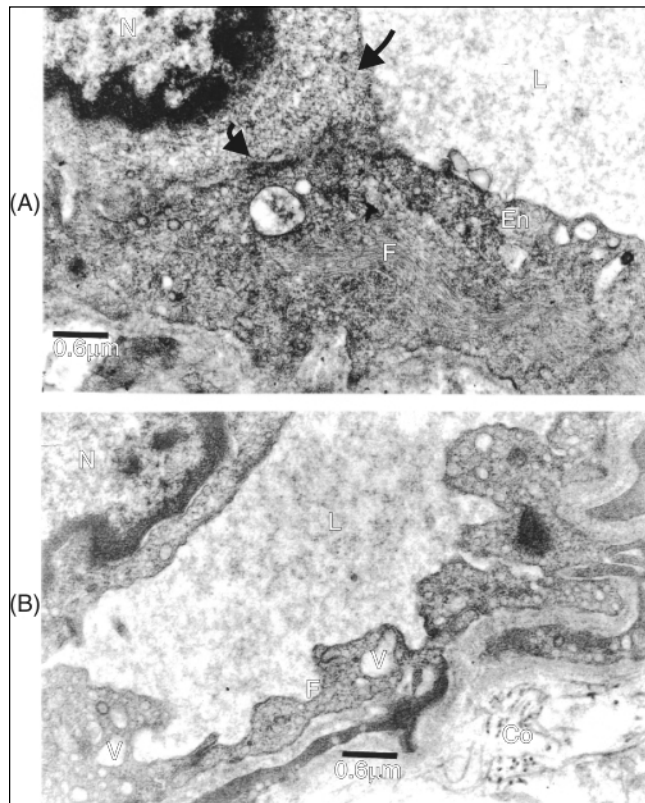
En estudios con resonancia espectroscópica fosfogénica se ha demostrado también la influencia que ejerce en la preservación de fosfatos de alta energía en el tejido cardíaco de seres humanos<sup>(16,20)</sup>. De tal forma que con esta solución la concentración de fosfocreatina (PCr) no se eleva pero se mantiene, mientras que el índice fosfato inorgánico:adenosintrifosfato (Pi:ATP) disminuye paulatinamente hasta alcanzar concentraciones equivalentes a las que presentaba en condiciones basales la suma de los radios fosfocreatina:adenosintrifosfato (PCr:ATP) y Pi:ATP<sup>(21,22)</sup>. Mediante este efecto se logra mantener la concentración de PCr hasta por 8 horas en modelos experimentales de isquemia, evitando la caída abrupta de las reservas de ATP y consecuentemente, la muerte celular y la destrucción tisular<sup>(23)</sup>.

A pesar de estos hallazgos experimentales, el uso de la solución HTK no evita por completo el daño provocado por la isquemia-reperusión, ya que después de la derivación cardiopulmonar se observa el desarrollo de edema endotelial capilar, vacuolización y fenestración de la membrana basal<sup>(24)</sup>. Esto significa que aun cuando se mantengan concentraciones adecuadas de esta solución, el agua fluye hacia el espacio intracelular provocando edema y osmólisis<sup>(2,25)</sup>. Como resulta-



**Figura 1. (A).** Estructura capilar antes de la derivación cardiopulmonar: N = Núcleo de la célula endotelial. Nu = Nucléolo. En = Endotelio. L = Lumen. E = Eritrocito. ↑ = Membrana basal.

**(B).** Estructura capilar después de la derivación cardiopulmonar: N = Núcleo picnótico de una célula endotelial. V = Vacuolas. ↑ En = Material electrodenso dentro de la célula endotelial. ↑ = Destrucción de la membrana basal. L = Lumen. E = Eritrocito. P = Plaquetas. O = Edema.



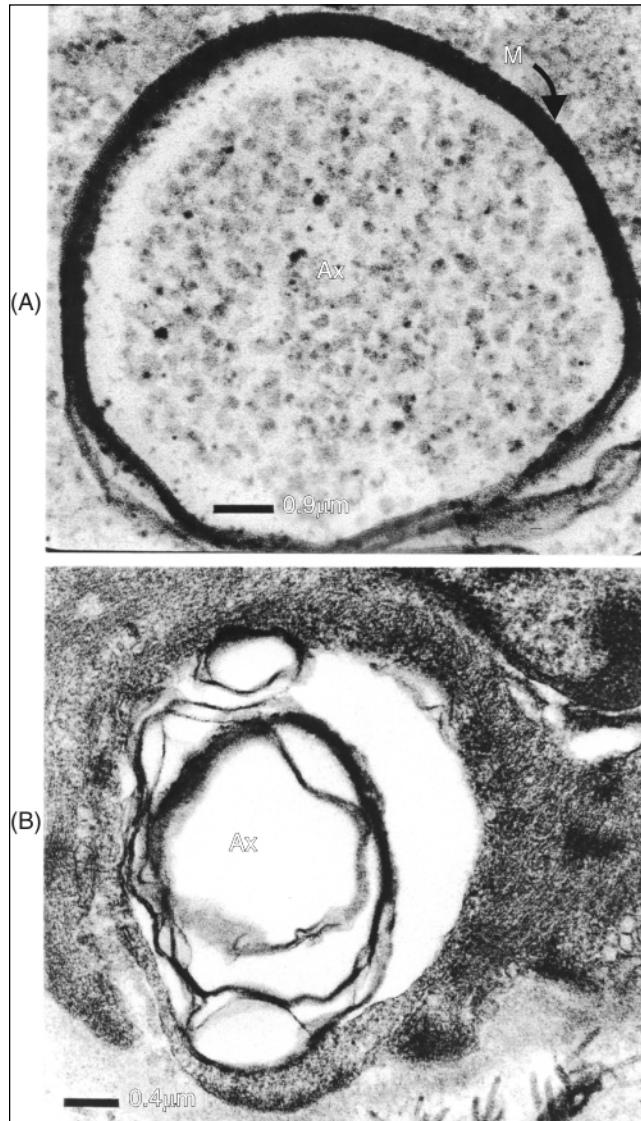
**Figura 2. (A).** Corte transversal de un vaso capilar arterial antes de la derivación cardiopulmonar: L = Lumen. En = Endotelio. N = Núcleo de la célula endotelial. F = Haz de filamentos.

**(B).** Corte transversal de un vaso capilar arterial después de la derivación cardiopulmonar: N = Núcleo indentado de la célula endotelial. V = Vacuolización endotelial. Co = Destrucción de la membrana basal. F = Fenestraciones.

do, la baja concentración de sodio en el medio activa al intercambiador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$  facilitando, por un lado, el influjo de calcio y, por el otro, la isquemia por sí misma; al despolarizar a la membrana libera iones de calcio a partir de almacenes intracelulares sensibles a inositol-trifosfato<sup>(21,26,27)</sup>. Además, durante la reperusión los canales iónicos voltaje-dependientes del  $\text{Ca}^{++}$  permanecen activos, produciendo hipersensibilidad intracelular a los escasos iones que en ese momento han alcanzado el citosol, de tal forma que durante el postoperatorio este fenómeno puede provocar lesión de las células endoteliales, miocárdicas y neuronales, iniciando un proceso de desensibilización a las catecolaminas. En estas circunstancias se atenúa el efecto inotrópico positivo que la norepinefrina o la epinefrina pudiera ejercer sobre las fibras miocárdicas, cuya energía de contracción por el mismo procedimiento quirúrgico se encuentra disminuida. En consecuencia, se vuelve aún

más difícil el tratamiento de la insuficiencia cardíaca durante las primeras horas del postoperatorio.

Por otro lado, la destrucción de las células nerviosas altera la función de los receptores DL  $\alpha$ -amino, 3-hidroxi, 5-metil, 4-isoxazol propiónico-dependientes (AMPA) y la de los N-metil, D-aspartato-dependientes (NMDAR) los que en condiciones normales, mediante el influjo iónico de  $\text{Ca}^{++}$ , desencadenan la activación de procesos de autofosforilación de proteincinasas dependientes del complejo  $\text{Ca}^{++}$ -calmodulina, facilitando la contracción miocárdica<sup>(28-32)</sup>. Con base en este concepto se considera que las alteraciones que probablemente presentan los AMPAR y los NMDAR durante el síndrome de reperusión, podrían explicar el efecto inotrópico negativo y un buen número de arritmias que alteran la evolución clínica del paciente durante el postoperatorio inmediato<sup>(33)</sup>. No obstante lo anterior, los reportes clínicos



**Figura 3. (A).** Corte transversal de un axón antes de la derivación cardiopulmonar: Ax = Axoplasma. M = Periodicidad mielínica.

**(B).** Corte transversal de un axón después de la derivación cardiopulmonar: Ax = Edema axoplásmico y pérdida de la periodicidad de la mielina.

sobre el estado postoperatorio de los pacientes después del uso de diferentes soluciones para tratar la cardioplejía, demuestran que la solución HTK no sólo provee mejor protección sino que también es la que desencadena menor número de efectos colaterales<sup>(13,34,35)</sup>.

Sin lugar a dudas por el momento se requiere de mayor información para fundamentar y comprender la fisiopatología del fenómeno isquemia-reperusión, con el objeto de planear nuevas estrategias de preservación celular, tisular y orgánica.

## Referencias

1. Randsbaek F, Kimose HH, Hansen SB, Jacobsen B, Botker HE, Nielsen TT. Captopril improves oxygen and glucose extraction in pig hearts during reperfusion after cold cardioplegic storage. *Scan Cardiovasc J* 2000;34:201-208.
2. von Oppell UO, Pfeiffer S, Preiss P, Dunne T, Zilla P, Reichart B. Endothelial cell toxicity of solid-organ preservation solutions. *Ann Thorac Surg* 1990;50:902-910.
3. Sellke F, Shafique T, Schoen F. Impaired endothelium-dependent coronary microvascular relaxation after cold potassium cardioplegia and reperfusion. *J Cardiovasc Surg* 1993;105:52-58.
4. Brasil LA, Gomes WJ, Salomao R, Buffolo E. Inflammatory response after myocardial revascularization with or without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1998;66:56-59.
5. Marten K, Schmiedl A, Schnabel PA, Richter J. Structural protection of the myocardial capillary endothelium by different forms of cardiac arrest and subsequent global ischemia at 5 degrees C. *Thorac Cardiovasc Surg* 1999;47:205-212.
6. Butler J, Rocker GM, Westaby S. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993;55:552-559.
7. Caputo M, Ascione R, Angelini GD, Suleiman MS, Bryan AJ. The end of the cold era: from intermittent cold to intermittent warm blood cardioplegia. *Eur J Cardiothorac Surg* 1989;14:467-475.
8. Saitoh Y, Hashimoto M, Ku K, Kin S, Nosaka S, Masumura S, Nakayama K. Heart preservation in HTK solution: role of coronary vasculature in recovery of cardiac function. *Ann Thorac Surg* 2000;69:107-112.
9. Schaper J, Schwarz F, Kittstein H, Stammer G, Winkler B, Scheld H, Hehrlein F. The effects of global ischemia and reperfusion on human myocardium: quantitative evaluation by electron microscopy morphometry. *Ann Thorac Surg* 1982;33:116-122.
10. van der Heijden EP, Kroese AB, Werker PM, Kon M, de With MC, Bar DP. Preservation of rat skeletal muscle function during storage for 16 h at 4 degrees C is not improved by prestorage perfusion. *Clin Sci* 2003;105:29-37.
11. Jiménez-Cardoso JM, Shcheleib R, Chousleb A. Electronic microscopy of ischemic and protected myocardium. Study in rats. *Arch Invest Med* 1985;6:127-138.
12. Ackemann J, Gross W, Mory M, Schaefer M, Gebhard MM. Celsior *versus* custodiol: early postischemic recovery after cardioplegia and ischemia at 5 degrees C. *Ann Thorac Surg* 2002;74:522-529.
13. Kuhn-Régnier F, Fischer JH, Jeschkeit S, Switkowski R, Bardakcioglu Ö, Sobottke R, de Vivie ER. Coronary oxygen persufflation combined with HTK cardioplegia prolongs the preservation time in heart transplantation. *Cardiothorac Surg* 2000;17:71-76.
14. Schmiedl A, Schnabel PA, Richter J. Cellular edema and alterations in metabolite content in the ischemic and reperfused canine heart following different forms of cardiac arrest. *Pathol Res Pract* 1996;192:1163-1178.
15. Gu K, Kin S, Saitoh Y, Nosaka S, Sasaki T, Yamauchi M, Nakayama K. HTK solution is more effective than UW solution for cardiac preservation. *Trans Proc* 1996;28:1906-1907.
16. Horska A, Vavrinkova H, Hajek M, Tutterova M, Böhm F, Kolc J, Suchanek M. The phosphate pool of isolated dog heart during global ischaemia: comparison of two cardioplegic solutions with <sup>31</sup>P NMR spectroscopy. *Physiol Res* 1991;40:427-436.
17. Ohkado A, Cao-Danh H, Sommers KE, Nido PJ. Evaluation of highly buffered low-calcium solution for long-term preservation of the heart. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;108:762-771.
18. Arsenian M. Potential cardiovascular applications of glutamate, aspartate and other amino acids. *Clin Cardiol* 1998;21:620-624.
19. Hachida M, Nonoyama M, Bonkohara Y, Hanayama N, Saitou S, Maeda T, Ohkado A, Lu H, Koyanagi H. Clinical assessment of prolonged myocardial preservation for patients with a severely dilated heart. *Ann Thorac Surg* 1997;64:59-63.

20. Brinkmann G, Burkhardt C, Clausen M, Henze E. Die Wirkung kardioplegielösungen nach Belzer und Bretschneider auf myokardialen Energiestoffwechsel. *Z Kardiol* 1992;81:339-344.
21. van Echteld CJA, Dobbenburgh JO, Kirkels JH, Jambroes G, Lahpor JR, Ruigrok TJC. Long-term hypothermic preservation of human donor hearts monitored by  $^{31}\text{P}$  magnetic resonance spectroscopy. *Proc Soc Magn Res Med* 1990;247:65-72.
22. van der Heijden EP, Kroese AB, Werker PM, de With MC, de Smet M, Kon M, Bär DP. Improving the preservation of isolated rat skeletal muscles stored for 16 hours at 4°C. *Transplantation* 2000;69:1310-1322.
23. Pulis RP, Wu BM, Kneteman NM, Churchill TA. Conservation of phosphorylation state of cardiac phosphofructokinase during *in vitro* hypothermic hypoxia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;279:H2152-H2158.
24. Schmiedl A, Richter J, Schnabel PA. Different preservation of myocardial capillary endothelial cells and cardiomyocytes during and after cardioplegic ischemia (25 degrees C) of canine hearts. *Pathol Res Pract* 2002;198:281-290.
25. Koch A, Bingold TM, Oberlander J, Sack FU, Otto HF, Hagl S, Schnabel PA. Capillary endothelia and cardiomyocytes differ in vulnerability to ischemia/reperfusion during clinical heart transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001;20:996-1001.
26. Garlicki M, Kolcz J, Rudzinski P, Kapelak B, Sadowski J, Wójcik S, Pietrzyk E, Drukala J, Dziatkowiak A. Myocardial protection for transplantation. *Trans Proc* 1999;31:2079-2083.
27. Krohn E, Stinner B, Fleckenstein M, Gebhard MM, Bretschneider HJ. The cardioplegic solution HTK: effects on membrane potential, intracellular  $\text{K}^+$  and  $\text{Na}^+$  activities in sheep cardiac Purkinje fibers. *Pflügers Arch* 1989;415:269-275.
28. Chang CF, Gutiérrez LM, Mundina CW, Hosey M. Dihydropyridine-sensitive calcium channels from skeletal muscle. *J Bio Chem* 1991;266:16395-16400.
29. Hawkins C, Xu A, Narayanan N. Sarcoplasmic reticulum calcium pump in cardiac and slow twitch skeletal muscle but not fast twitch skeletal muscle undergoes phosphorylation by endogenous and exogenous  $\text{Ca}^{++}$ /calmodulin-dependent protein kinase. *J Biol Chem* 1994;269:31198-31206.
30. Leddy JJ, Murphy BJ, Yi Q, Doucet JP, Pratt C, Tuana BS. A 60kDa polypeptide of skeletal-muscle sarcoplasmic reticulum is a calmodulin-dependent protein kinase that associates with and phosphorylates several membrane proteins. *Biochem J* 1993;295:849-856.
31. Mahrenholz AM, Lan L, Mansour TE. Phosphorylation of heart phosphofructokinase by  $\text{Ca}^{++}$ /calmodulin protein kinase. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;174:1255-1259.
32. Ravens U, Himmel HM, Fluss M, Davia K, Harding SE. Phosphodiesterase inhibition and  $\text{Ca}^{2+}$  sensitization. *Mol Cell Biochem* 1996;157:245-249.
33. Carmeliet E. Cardiac ionic currents and acute ischemia: from channels to arrhythmias. *Physiol Rev* 1999;79:917-1017.
34. Beyersdorf F, Krause E, Sarai K, Sarai K, Sieber B, Deutschland N, Zimmer G, Mainka L, Probst S, Zegelman M, Schneider W, Satter P. Clinical evaluation of hypothermic ventricular fibrillation multi-dose blood cardioplegia and single-dose Bretschneider cardioplegia in coronary surgery. *Thorac Cardiovasc Surg* 1990;38:20-29.
35. Careaga G, Salazar D, Téllez S, Sánchez O, Borrayo G, Argüero R. Clinical impact of histidine-ketoglutarate-tryptophan (HTK) cardioplegic solution on the perioperative period in open heart surgery patients. *Arch Med Res* 2001;32:296-299.