

IVAN SALVADOR BONILLO CONTRERAS

**PRÉ-CONDICIONAMENTO ISQUÊMICO IMEDIATO
BASEADO NA MONITORIZAÇÃO DOS POTENCIAIS
EVOCADOS SOMATO-SENSORIAIS NA PREVENÇÃO
DA LESÃO DA MEDULA ESPINHAL**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Cirurgia Torácica e
Cardiovascular

Orientador: Prof. Dr. Luiz Felipe Pinho Moreira

SÃO PAULO

2004

Mudam-se os tempos, mudam-se as vontades
muda-se o ser, muda-se a confiança
todo mundo é composto de mudanças
tomando sempre novas qualidades.

Camões

Dedicatória

A Deus sempre do meu lado.

À minha esposa, **Laura Cristina Riera Lameda**, trabalhadora incansável, cuja presença transforma o meu dia-a-dia e nos torna uma família. Graças a ela realizei um sonho e agora minha realidade é outra. Simplesmente te amo.

Aos meus pais, **Julian** e **Yolanda**, aos quais agradeço a vida que recebi e o exemplo de família, de pais e educadores que são. As palavras não são suficientes para expressar o meu amor por vocês.

A minha irmã, **Carolina**, companheira de toda a vida, para toda a vida. O afeto trocado por nós é muito intenso e construtivo, assim como o orgulho de um pelo outro.

Aos meus sobrinhos, **Reina de Luz** e **Julio César**, que são novos motivos para lutar.

A **Esperanza**, sempre presente, estimulando, colaborando, acreditando é a toda a família Riera Lameda por terem se tornado minha família também.

A minha avó, **Irene Contreras**, que com o seu jeito carinhoso de ser está, sempre atenta aos feitos de seu neto.

Aos meus Tios e Tias, **Omar, Raúl, Lorenzo, Belkys, Haideé, Zenaida, Marúja, Marlene, María, De Fermin, Ziro** e **Helena** cada um do seu jeito, sempre ao meu lado me ajudando.

A **Edgar** e **Andres**, onde vocês estiverem, sei que estão muito orgulhosos neste momento.

A meus primos **Ariyuri, Dayana, Wanda, Aliskair, Leo, Chucho, Demis, Iremar, Yolymer, Maryuri, Dagmary, Kaira** e **Carlos**, para que continue o respeito e o orgulho de um pelo outro.

Aos meus amigos, **Andréa, Valerie, Richard, Patrícia, Fernanda, Nivaldo, Alzy** e **Fabio**, simplesmente meus irmãos brasileiros.

Aos meus amigos **Luis Cerda, Luis Chivas, Luis Camaripano, Camilo Morantes, Antonio Armao, José Gregório Álvares, Alicia Melendez** e aos que pela emoção, estou me esquecendo.

Aos meus padrinhos **Salvador Pérez Aleman, Celeste de Pérez** é **Maritza Mancha**, pelo exemplo de trabalho e dedicação, pelo seu apoio nos momentos certos e principalmente pela presença.

Agradecimentos

Ao **Prof. Dr. Dr. Luiz Felipe Pinho Moreira**, meu orientador, cujo apoio objetivo e experiência científica, foram fatores determinantes para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Altamiro Ribeiro Dias**, meu professor, meu amigo, incansável em seus estímulos, orientações e apoio para a realização deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Noedir A.G. Stolf**, por acreditar na pessoa, no profissional minha gratidão por tudo.

Ao **Dr. Ricardo Ribeiro Dias**, que através de sua experiência científica me orientou na busca do melhor tema a estudar. Mas que amigo, irmão, sempre disposto a me ajudar.

Ao **Dr. Carlos Manuel Brandão**, guia nos meus primeiros passos nesta difícil, porém belíssima especialização.

Aos demais colegas cirurgiões da Divisão de Cirurgia do Instituto do Coração pelo convívio, pelas constantes orientações e estímulos para a realização deste trabalho.

À equipe que participou e tornou possível a realização deste trabalho experimental, em especial ao **Dr. Gerson Ballester**, a **Bernardo de Monaco**, e ao técnico de biotério **Nelson Correia Júnior**.

Ao **Prof. Dr. Maurício Rocha e Silva** e sua equipe do Serviço de Fisiologia Aplicada, que me acolheram em seu ambiente de trabalho e possibilitaram a realização deste trabalho, sempre dando suporte técnico, material e conforto emocional e de maneira muito especial, ao **Dr. Poli Figueredo**.

Ao Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, em especial à **Profa. Dra. Carmen Lucia Penteado**, pelas orientações e a sua equipe de biólogos, que processarem o material da pesquisa.

À **Adriana Moreira de Quadros** que, com sua ajuda e assistência em informática, muito me auxiliou na apresentação deste material.

Ào InCor, pelo reconhecimento científico e apoio para o desenvolvimento deste trabalho.

Sumário

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO	2
1.1. Objetivos do Estudo	6
1.2. Aspectos Relevantes da literatura	7
2. MATERIAIS E MÉTODO	23
2.1. Estudo Piloto	24
2.2. Padronização do Modelo Experimental	25
2.2.1. Procedimento Anestésico	26
2.2.2. Monitorização Hemodinâmica	28
2.2.3. Monitorização dos Potenciais Evocados Somato-sensoriais	30
2.2.4. Procedimento Cirúrgico	33
2.2.5. Avaliação Neurológica	35
2.3. Retirada e Avaliação Anátomo-Patológica das Medulas Espinhais	37
2.4. Análise Estatística	39
3. RESULTADOS	42
3.1. Monitorização dos Potenciais Evocados Somato-sensoriais	44
3.2. Avaliação Neurológica	45
3.3. Estudo Anátomo-Patológico	47
3.4. Correlação entre Tempo de Recuperação dos PESS e Isquemia Medular	51
4. DISCUSSÃO	54
5. CONCLUSÕES	63
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

Resumo

CONTRERAS ISB. **Pré-condicionamento isquêmico baseado na monitorização dos potenciais evocados somato-sensoriais na prevenção da lesão da medula espinal.** São Paulo, 2004. 96 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Objetivo: Resultados controversos têm sido observados com o emprego de pré-condicionamento isquêmico (PI) como método de proteção da medula espinal. Neste trabalho, foram investigados os efeitos do PI, baseado na monitorização dos potenciais evocados somato-sensoriais, em um modelo de lesão isquêmica da medula em decorrência da oclusão da aorta torácica descendente em cães.

Material e Métodos: Vinte e um animais foram submetidos à isquemia da medula espinal, que foi induzida pela oclusão combinada da aorta torácica descendente, logo após a emergência da artéria subclávia e junto ao diafragma. Eles foram divididos em três grupos: o grupo controle (n=7) foi submetido isoladamente à oclusão da aorta; o grupo A (n=7) foi submetido a um período de PI e o grupo B (n=7) a três períodos iguais de PI, imediatamente antes da oclusão da aorta. Os períodos de PI foram definidos pela monitorização dos potenciais evocados somato-sensoriais. Durante o PI, a oclusão da aorta foi mantida até a queda das amplitudes dos potenciais evocados abaixo de 60% do seu valor original, sendo seguida por um período de recuperação que foi mantido até a recuperação dos potenciais

evocados acima daquele valor. A avaliação neurológica dos animais foi realizada de acordo com a escala de Tarlov até 72 horas de seguimento. Os animais foram então sacrificados e a medula espinal enviada para estudo anátomo-patológico.

Resultados: As pressões nos diversos segmentos da aorta, durante o período de isquemia medular, foram semelhantes nos três grupos. Os períodos de PI corresponderam a um tempo médio de isquemia de 3 ± 1 minutos e a um tempo médio de recuperação de 7 ± 2 minutos. Paraplegia completa foi observada em três animais do grupo Controle, em quatro do grupo A e em nenhum do grupo B. O escore de Tarlov no grupo A foi significativamente melhor do que o observado no grupo Controle, com 72 horas de seguimento (4 versus 2,1, $p=0,036$). O estudo histológico demonstrou a existência de necrose importante dos segmentos torácico e lombar da medula espinal nos animais que apresentaram paraplegia completa.

Conclusões: O PI repetitivo baseado na monitorização dos potenciais evocados somato-sensoriais protege a medula espinal durante a oclusão da aorta torácica descendente, diminuindo a incidência de paraplegia.

Summary

CONTRERAS ISB. Immediate Ischemic **Preconditioning Based on Somatosensory Evoked Potentials Prevents Spinal Cord Injury**. São Paulo, 2004. 96 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Objective: Delayed ischemic preconditioning has demonstrated neuroprotective effects in spinal cord ischemia. We investigated the effects of immediate ischemic preconditioning based on somatosensory evoked potentials monitoring in a model of spinal cord injury due to descending thoracic aorta occlusion in dogs.

Methods: Twenty-one dogs were submitted to spinal cord ischemia, which was induced for 45 minutes by combined cross-clamping of the thoracic aorta immediately after the left subclavian artery and nearby the diaphragm. They were divided in three groups: control group underwent only the aortic cross-clamping (n=7), group A underwent one period of ischemic preconditioning (n=7) and group B three equal periods of ischemic preconditioning (n=7) immediately before the aortic cross-clamping. Ischemic preconditioning periods were determined by somatosensory evoked potentials monitoring. During ischemic preconditioning, aortic occlusion was maintained until the decrease of somatosensory evoked potentials amplitudes at less than 60% of their original values and was followed by a recovery period which was sustained until the return of somatosensory evoked potentials amplitudes

above that level. Neurologic evaluation was performed by an independent observer according to the Tarlov score at 24, 48 and 72 hours of follow-up. The animals were then sacrificed and the spinal cord harvested for histopathology.

Results: Aortic pressures before and after the occluded segment were similar between the groups. Ischemic preconditioning periods corresponded to a mean ischemic time of 3 ± 1 minutes and mean recovery time of 7 ± 2 minutes. Severe paraplegia was observed in three animals in Control Group, in four in Group A and in none in Group B. Mean Tarlov score of Group B was significantly better in comparison to the Control Group at 72 hours of follow-up (4 vs 2.1, $p=0.036$). Histopathological examination showed severe neuronal necrosis in the thoracic and lumbar gray matter in animals who presented severe paraplegia.

Conclusions: Immediate repetitive ischemic preconditioning based on somatosensory evoked potentials monitoring protects spinal cord during descending aorta cross-clamping, reducing paraplegia incidence.

1. Introdução

A morbi-mortalidade da abordagem cirúrgica dos aneurismas da aorta torácica descendente e tóraco-abdominal é elevada, seja pela ocorrência de sangramento intra ou pós-operatório, isquemia medular ou isquemia visceral ¹⁴. A paraplegia no período pós-operatório é uma das complicações de maior gravidade e que causa mais sofrimento ao paciente e familiares. Na maioria das vezes, o déficit é irreversível, sendo decorrente do sofrimento isquêmico medular durante o processo de correção do aneurisma ^{14,17}. Recentes relatos têm demonstrado que a incidência da lesão neurológica na correção dos aneurismas da aorta torácica descendente varia de 5% a 16% e na correção dos aneurismas tóraco-abdominais de 8% a 40% ^{34,90}, quando o procedimento é realizado através da abordagem cirúrgica convencional. Esta complicação tem sido menos relatada em pacientes submetidos à correção endovascular destes aneurismas, sendo descritos índices variando de 0% a 6,9% ^{9,29,45,76}. Quando as próteses endovasculares são implantadas através do arco aórtico, sob parada circulatória total, no entanto, os índices de comprometimento da função

medular têm variado entre 4% e 21% ^{54,77,82,92}, não diferindo daqueles observados com a abordagem cirúrgica convencional.

Os principais fatores de risco associados à paraplegia são aqueles relacionados à anatomia individual do paciente, aos cuidados anestésicos necessários durante o procedimento e a tática cirúrgica adotada ¹⁴. O risco de isquemia medular está diretamente relacionado ao local e ao tempo de pinçamento da aorta, a extensão do segmento pinçado, a pressão de perfusão da região distal da aorta durante o procedimento e a pressão de perfusão medular peri-operatória ¹².

Diversos procedimentos têm sido propostos com o objetivo de minimizar o risco de dano medular isquêmico na correção das doenças da aorta torácica descendente. Dentre eles, podemos destacar as técnicas de perfusão distal ^{19,70}, a drenagem líquórica ^{6,7,18,36,42,53,55,73} e a hipotermia regional ^{10,41,50,83,95}, cujos resultados obtidos, entretanto, ainda são controversos.

Um importante fator na cirurgia de correção dos aneurismas da aorta torácica descendente é a possível monitorização da função medular através dos potenciais evocados somato-sensoriais (PESS) e motores. Mudanças observadas nesses potenciais que possam sugerir isquemia medular permitem uma intervenção instantânea do cirurgião para tentar corrigir os fatores que poderiam estar desencadeando esta alteração ⁷¹. O registro dos PESS mostra modificações instantâneas conforme o sofrimento isquêmico medular, onde uma redução de 40% na amplitude da maior onda desse potencial significa sofrimento isquêmico importante ^{15,28,44,60,96}.

Paralelamente, desde o final da década passada, as conseqüências fisiopatológicas da isquemia miocárdica humana têm recebido muita atenção após a descrição dos conceitos do miocárdio atordado ⁸ e do miocárdio hibernado ⁶⁹. MURRY et al. (1986) ⁵⁸ demonstraram que mecanismos protetores endógenos do miocárdico existem e que curtos intervalos de isquemia, acompanhados por períodos de reperfusão, paradoxalmente, aumentam a resistência a maiores danos isquêmicos. Este tipo de resposta fisiopatológica foi denominado pré-condicionamento isquêmico (PI) ⁵⁸.

Subseqüentemente, outros autores demonstraram que o PI tem efeito protetor em vários sistemas orgânicos ^{100,90}, incluindo a medula espinhal e o cérebro ^{1,38,39,40,66,67}. De maneira geral, o PI pode ocorrer em duas fases distintas, sendo uma aguda ou imediata e a outra crônica ou tardia. O PI imediato induz tolerância isquêmica em minutos ou poucas horas, no entanto, o PI tardio requer muitas horas ou dias depois do estímulo isquêmico para aumentar a tolerância à isquemia ^{2,30,52,90,91}.

Alguns modelos bioquímicos com bases moleculares explicam de forma consistente e ordenada uma série de eventos que aparecem durante o PI no coração. A partir de um estímulo isquêmico, é gerado um sinal que é rapidamente introduzido dentro da célula. Este sinal dá origem a uma mensagem que será amplificada e se converterá em mecanismo efetor ³⁰. Neste sentido, vários estudos mostram a adenosina como o sinal mais importante no mecanismo de desencadeamento do PI imediato ^{30,93,97}. Por outro lado, as alterações no núcleo celular, geradas pelo mesmo estímulo

isquêmico, incrementam a produção das proteínas de estresse, como a “Heat Shock Protein” (HSP), e de enzimas anti-oxidantes que são responsáveis pela aparição do PI tardio^{30,74}.

O tempo de isquemia requerido para induzir o PI é variável entre espécies e entre órgãos e sistemas^{15,80,90,100}. Em virtude da grande variabilidade anatômica na vasculatura do cordão medular, mesmo entre indivíduos de uma mesma espécie, é muito difícil determinar com exatidão os tempos de isquemia e de reperfusão necessários para desencadear o PI, tanto agudo ou crônico^{71,94,96}. Provavelmente, esta é a razão pela qual, vários investigadores têm obtido resultados controversos na avaliação do PI da medula espinhal, mesmo trabalhando com animais da mesma espécie^{20,72,91}. No entanto, a maioria destes estudos tem demonstrado que o processo de PI existe e, em alguns casos, fornece às células tolerância adequada para resistir a uma agressão isquêmica prolongada^{51,57,74}.

Como os PESS têm sido empregados em estudos clínicos e laboratoriais, na avaliação intra-operatória da viabilidade do cordão medular, eles podem potencialmente ser utilizados na determinação dos tempos de isquemia e de reperfusão necessários para a obtenção do PI. Neste sentido, a monitorização dos PESS apresenta alta sensibilidade e especificidade na detecção da interrupção da perfusão medular, mesmo na presença da grande variabilidade anatômica vascular do cordão espinhal^{71,15}.

1.1. Objetivos do Estudo

Os objetivos do presente trabalho são:

1. Avaliar a eficácia do PI imediato, baseado na monitorização dos PESS, como método de proteção medular em cães.
2. Avaliar a sensibilidade dos PESS como método de avaliação prognóstica da ocorrência de lesão isquêmica medular e paraplegia em cães.

1.2. Aspectos Relevantes da Literatura

Métodos de Proteção da Isquemia Medular

O risco de isquemia medular na correção dos aneurismas da aorta torácica descendente e tóraco-abdominal está diretamente relacionado ao local e ao tempo de pinçamento da aorta, assim como a pressão de perfusão distal deste vaso durante o procedimento^{6,12,14,32,56,85}. A localização anatômica da principal artéria que nutre a medula espinhal, a artéria radicular magna anterior ou artéria de ADAMKIEWICZ, também é um fator relevante, por causa do segmento da aorta que será abordado durante a correção cirúrgica desses aneurismas.

A artéria de ADAMKIEWICZ está situada entre T5 e T8 em 15% dos casos, entre T9 e T12, em 60% dos casos e ao nível de L1 e L2, nos 25% restantes¹⁴. Ela ocupa normalmente o sulco central da medula, freqüentemente apresenta descontinuidade, e uma ou mais artérias intercostais contribuem para a sua formação. Sua configuração anatômica e o ângulo de junção com a artéria espinhal anterior orientam o fluxo sanguíneo no sentido céfalo-caudal^{14,85}.

Frente aos aspectos inerentes ao procedimento cirúrgico, existem métodos que podem minimizar os riscos relacionados à isquemia medular na cirurgia de correção dos aneurismas da aorta torácica. Alguns são questionáveis, como: intervenções farmacológicas com metil prednisolona, "scavengers" de radicais livres, papaverina intra-tecal e tetracaína^{14,21}.

Outros, todavia, são bastante precisos, tais como: redução do tempo de pinçamento da aorta ^{12,14,87}, redução da distância entre as pinças vasculares ⁷⁸, manutenção da pressão sistêmica mais elevada que o habitual ⁶, resfriamento sistêmico ou local da aorta ^{41,76}, reimplante das artérias intercostais ou lombares ¹⁴, perfusão do segmento distal da aorta ^{31,70}, e drenagem do líquido céfalo-raquidiano ^{6,7,18,36,42,53,55,73}.

Técnicas de Perfusão Distal da Aorta

As técnicas de perfusão distal da aorta durante o período de pinçamento do segmento da aorta, necessário para a correção cirúrgica de suas afecções, são três: a derivação ou “shunt” aorto-aórtico com ou sem assistência mecânica; a derivação átrio esquerdo - artéria femoral através de bomba de assistência circulatória sem exclusão pulmonar e a circulação extracorpórea total ou parcial com exclusão pulmonar ⁷⁰. Estes procedimentos têm o objetivo de elevar o fluxo sanguíneo da medula espinhal lombar, através do aumento da pressão do segmento distal da aorta. A este respeito, SVENSSON et al. (1986) ⁸⁵ estudaram o fluxo sanguíneo vascular na medula espinhal de babuínos, através de microesferas radioativas. Observaram que, na presença de derivação aorto-aórtica, houve elevação significativa do fluxo na medula espinhal lombar. Este fato não ocorreu para o fluxo medular ao nível da aorta torácica distal, independentemente da elevação da pressão no segmento distal da aorta, deixando dúvidas quanto à proteção medular por este método, para os

pacientes com a artéria radicular magna anterior não situada em território lombar.

Por outro lado, os resultados clínicos observados com o emprego de técnicas de perfusão distal da aorta, na correção das afecções da aorta torácica descendente e tóraco-abdominal, têm sido muito superiores aos observados na ausência de métodos de proteção da medula espinhal^{78,12}. Apesar destes resultados serem semelhantes com os diversos métodos de perfusão descritos, o emprego da derivação átrio esquerdo – femoral tem sido o procedimento mais utilizado clinicamente, por causa da baixa incidência de complicações vasculares e hemorrágicas observada⁸⁵.

Hipotermia Tópica ou Sistêmica

Dentro das múltiplas estratégias aplicadas para se diminuir as conseqüências da isquemia do cordão espinhal, tem-se estudado o efeito neuroprotetor da hipotermia. Acredita-se que o mecanismo principal desta abordagem esteja relacionado à estabilização da membrana celular e à redução da excitabilidade dos neurotransmissores e que seja secundário o mecanismo que promove a diminuição do metabolismo tecidual⁸³. As necessidades de oxigênio pelo sistema nervoso central diminuem de 6% a 7% por cada grau de temperatura diminuída no cordão espinhal. Experiências clínicas com hipotermia profunda (15 a 18°C) e parada circulatória total têm demonstrado efeito protetor sobre o cérebro e sobre o cordão espinhal na correção de doenças cardíacas complexas e do arco

aórtico ^{41,83}. No entanto, o entusiasmo pela aplicação clínica da hipotermia profunda como mecanismo de proteção medular nos procedimentos cirúrgicos da aorta torácica descendente tem sido limitado, principalmente pelo elevado índice de complicações pulmonares e do sistema de coagulação observado com esta abordagem.

Trabalhos experimentais verificaram que a perfusão hipotérmica regional, restrita ao espaço epidural ou intratecal, é 100% efetiva na prevenção da lesão medular induzida pelo pinçamento aórtico ^{76,95}. MARSALA et al. (1993) ⁵⁰ foram os primeiros a demonstrar a aplicabilidade de um sistema fechado de infusão epidural, com hipotermia moderada (26 a 28°C), prevenindo o dano isquêmico do cordão espinhal ¹⁰. Este tipo de abordagem já foi empregado clinicamente em mais de 300 pacientes, sendo observada diminuição da incidência de complicações isquêmicas da medula espinhal, cujos valores se situam em torno de 3% dos casos operados ¹⁰.

Drenagem do Líquido Céfalo-Raquidiano

No início dos anos 60, BAISDELL e COOLEY (1963) ⁶ e MIYAMOTO et al. (1960) ⁵⁵ reportaram que a drenagem do líquido antes do pinçamento aórtico diminuía significativamente a incidência de paraplegia. Estes autores lançaram o conceito de “pressão de perfusão relativa do cordão espinhal”, pressão esta determinada pela diferença entre a pressão da artéria espinhal e a pressão do líquido. Demonstrou-se, através de estudos experimentais em cães, que depois do pinçamento aórtico, a

pressão de perfusão do cordão espinhal pode ser aumentada com a drenagem do líquido, resultando na diminuição da incidência de paraplegia 7,18, 35,36, 37,42, 53.

Esta hipótese foi sustentada por SVENSSON et al. (1986)⁸⁵, que demonstraram o efeito neuroprotetor da drenagem líquórica em pacientes submetidos à correção de aneurismas da aorta torácica descendente e tóraco-abdominal⁵⁵. Utilizando a mesma técnica, McCULLOUGH et al. (1988)⁵³ reportaram que 24 pacientes operados para a correção de aneurisma tóraco-abdominal não tiveram qualquer complicação neurológica. Por outro lado, experiências clínicas com séries prospectivas e randomizadas de pacientes com extensos aneurismas de aorta torácica descendente e tóraco-abdominal, demonstraram resultados controversos em relação ao emprego da drenagem líquórica na prevenção da paraplegia^{7,18}. Apesar deste fato, o emprego deste procedimento na prevenção da lesão medular tem sido indicado por diversos autores, com resultados expressivos em grandes séries de pacientes⁷³.

Emprego de Agentes Farmacológicos

Vários investigadores têm avaliado, através de estudos clínicos e experimentais, a possibilidade de diminuir os efeitos fisiopatológicos decorrentes da isquemia do cordão espinhal através da utilização de agentes farmacológicos. Os métodos descritos, no entanto, não têm apresentado resultados realmente efetivos na prevenção da paraplegia^{63,68}.

A principal causa da lesão celular durante a correção das afecções da aorta torácica é a hipóxia produzida pelo pinçamento aórtico. Este fato acarreta a aparição de pequenos focos de hemorragia, necrose, depósitos de plaquetas, formação de trombos e de radicais livres de oxigênio.

Entre os agentes farmacológicos estudados na prevenção das lesões medulares, o emprego da emulsão de perfluorocarbon (Fluosol-DA), componente inerte biológico com alta capacidade de transportar oxigênio e dióxido de carbono, pode levar a diminuição da isquemia neuronal. O seu mecanismo de ação deve-se a diminuição da viscosidade sangüínea, prevenção de colapso vascular, diminuição da migração de fluidos do espaço intracelular ao espaço extracelular e ao incremento da perfusão de oxigênio aos tecidos, sendo demonstrada uma ação favorável da administração deste fármaco na resposta neurológica de animais submetidos à isquemia prolongada ²³.

Outros autores têm estudado os efeitos dos “scavengers” de radicais livres de oxigênio, como o polyethilenglycol-conjugado de superóxido dismutase, sendo observado que este agente, utilizado antes e durante a oclusão da aorta descendente, incrementa a tolerância à isquemia medular, em modelo experimental em coelhos ⁴. Recentemente, ISBIR et al. (2003) ³³ combinaram o PI com a administração de nicotinamida, encontrando um benefício significativo em relação à prevenção da lesão medular, no grupo de animais submetidos submetido à infusão do fármaco. CAPARRELLI et al. (2003) ¹¹ demonstraram que a administração de diazóxido, facilitador da abertura dos canais de potássio dependentes de

adenosina trifosfato, melhora a resposta neurológica do cordão espinhal em coelhos, após um evento isquêmico prolongado.

Monitorização da Função Medular Através de Potenciais Evocados

Vários métodos surgiram para tentar avaliar a função do cordão medular durante a oclusão aórtica, na abordagem cirúrgica das afecções da aorta torácica. Dentre eles, a sensibilidade dos potenciais evocados no processo de interrupção da perfusão do cordão medular surgiu como uma modalidade efetiva de avaliação rápida da função medular, permitindo adicionalmente a avaliação da viabilidade das células neuronais⁷¹. Os PESS se registram no couro cabeludo e na coluna vertebral como resposta à estimulação elétrica de um nervo periférico misto ou cutâneo. A configuração, a polaridade e a latência da resposta dependem do nervo estimulado e da disposição do registro. São usados para avaliar as artérias proximais que irrigam o sistema nervoso periférico, bem como para analisar a integridade das vias somato-sensitivas centrais. Permitem ainda detectar e localizar lesões das vias aferentes do sistema nervoso central. Nos casos de lesão do cordão medular, podem determinar a magnitude da lesão, bem como a presença do restabelecimento precoce de uma resposta cortical, indicando lesão incompleta e, portanto, um prognóstico melhor de recuperação funcional⁵. Além disso, o controle intra-operatório da função das estruturas nervosas através dos PESS pode permitir a identificação precoce da disfunção nervosa⁵.

Outros tipos de potenciais evocados são citados na literatura. Os potenciais evocados motores (PEM) são potenciais elétricos registrados a partir dos músculos, via medula espinhal, após a estimulação do córtex motor e das vias motoras centrais ⁵. Na clínica, eles se registram como potenciais de ação musculares compostos, provocados a partir da estimulação magnética transcutânea do córtex motor. Além de seu possível valor no diagnóstico dos transtornos neurológicos ou na exploração da magnitude de uma afecção patológica, eles podem fornecer uma valiosa informação prognóstica, como por exemplo, na sugestão da probabilidade de recuperação da função motora após um acidente vascular cerebral ⁵.

O uso dos PEM pode ainda ser de utilidade no controle intra-operatório da integridade funcional dos fascículos motores centrais ⁵. No entanto, o emprego desses potenciais na monitorização intra-operatória da correção cirúrgica das afecções da aorta torácica é limitado, pois eles não podem ser utilizados concomitantemente à administração de inibidores da junção neuro-muscular. Além disso, outras drogas anestésicas e narcóticas também podem abolir ou suprimir o PEM, o que torna seu uso ainda mais restrito ^{79,96}.

O registro dos PESS e PEM mostra alterações instantâneas conforme o nível sofrimento isquêmico medular. Uma redução de 40% na amplitude da maior onda do PESS significa um sofrimento isquêmico importante. Com a manutenção da isquemia medular, o PESS torna-se uma linha isoeétrica, demonstrando a inatividade da medula ^{47,60}. Os PESS e os PEM podem apresentar resultados falso-negativos, ou seja, não se alteram,

embora a medula esteja sofrendo isquemia^{28,60,96}. No entanto, a incidência de falso-negativos no PESS e no PEM é menor do que 1%^{28,60,96}, fato que demonstra a elevada sensibilidade destes potenciais no diagnóstico do sofrimento isquêmico medular.

Pré-Condicionamento Isquêmico

A partir da descrição do PI por MURRY et al (1986)⁵⁸, vários autores demonstraram a ocorrência deste fenômeno em vários sistemas orgânicos. Por outro lado, os tempos de isquemia requeridos para induzir o PI são específicos de cada espécie e de cada órgão. Paralelamente, existe uma variação interespecies considerável na duração da proteção dada pelo componente imediato do PI nos diversos órgãos e tecidos, e o tempo de reperfusão necessário para desenvolver a proteção tardia também é variável.

O modelo bioquímico que explica a base molecular do PI é baseado nos estudos realizados em relação ao miocárdio. Como mostra a Figura 1, em resposta a um estímulo para obter o PI, um sinal é rapidamente gerado e traduzido dentro de uma mensagem intracelular que será amplificada para produzir um mecanismo efetor³⁰.

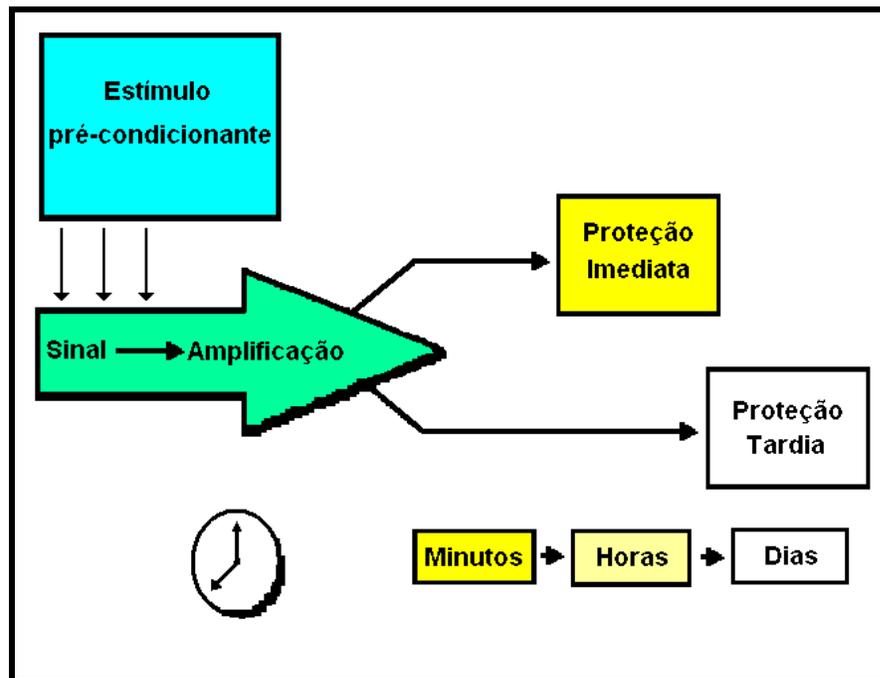


Figura 1: Curso temporal do pré-condicionamento isquêmico imediato e tardio

Com o suporte de cada um destes componentes, é ativada uma cascata que produz um complexo molecular multifatorial que resulta no PI (Figura 2) ³⁰.

A ativação da proteína G pela adenosina (Ade) ⁸⁸, bradicinina (Br) e possivelmente norepinefrina (Ne) ⁶⁴, estimula a fosfolipase C (PLC), incrementando a produção de diacetilglicerol (DAG) e inositol trifosfato (ITF). O DAG ativa a proteína-quinase C (PKC), que hiperpolariza a célula através dos canais de potássio dependentes do ATP. Este fato diminui o fluxo de cálcio intracelular, diminuindo a contratilidade miocárdica e o consumo de energia, sendo um mecanismo imediato do PI ^{30,81}.

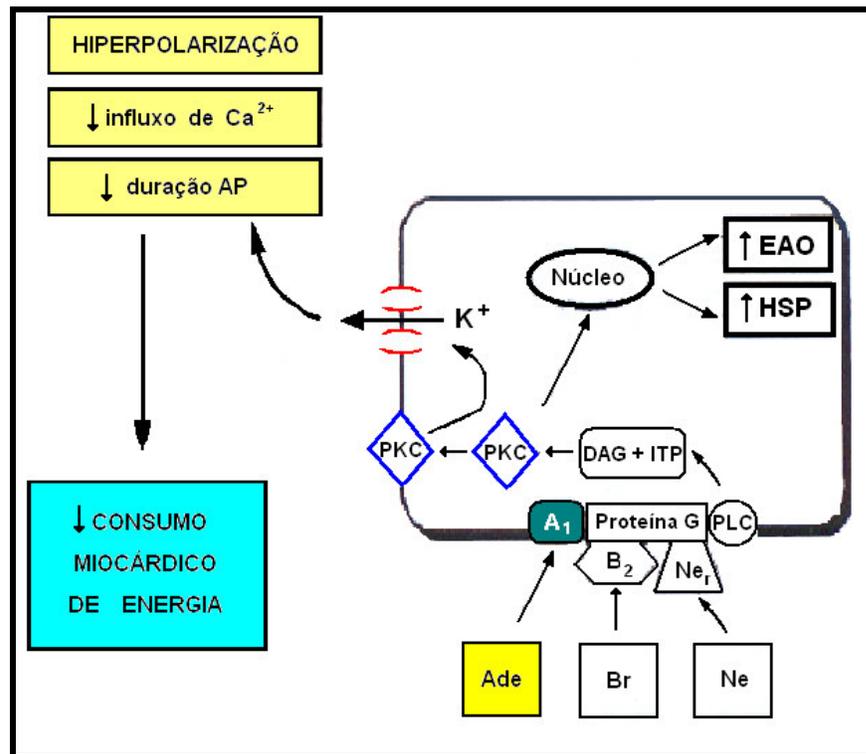


Figura 2: Cascata desencadeada pelo pré-condicionamento isquêmico

Através de uma proposta de translocação para o núcleo, a PKC pode incrementar a produção de proteínas de choque térmico (“heat shock protein” - HSP) e enzimas anti-oxidantes (EAO), sendo um mecanismo de proteção tardia do PI^{30,65}.

A adenosina é um nucleotídeo endógeno produzido principalmente pela degradação do ATP e pode limitar a injúria isquêmica, particularmente a de reperfusão. Este fato ocorre através de vários mecanismos que incluem a redução da aderência do neutrófilo e da citotoxicidade da célula endotelial, a diminuição da produção de anion superóxido, o incremento da estabilidade da membrana celular, a redução

do fluxo de cálcio e a hiperpolarização da célula através dos canais de potássio dependentes de ATP^{25,30}. Como a adenosina é rapidamente gerada durante a isquemia e atinge altas concentrações, muitos estudos sobre o PI sugerem que ela seja um possível sinal isquêmico responsável pela fase aguda³⁰.

Pré-Condicionamento Isquêmico da Medula Espinhal

O benefício protetor do PI na prevenção das lesões isquêmicas da medula espinhal foi inicialmente demonstrado em dois documentos da década de 90. MUNYAO et al. (1998)⁵⁷ estudaram coelhos que foram submetidos a 30 minutos de pinçamento aórtico, sendo um grupo com e o outro sem o PI da medula, realizado 2 ou 48 horas antes da agressão isquêmica da medula. Os coelhos submetidos ao PI 12 horas antes da isquemia medular prolongada, tiveram funções motoras significativamente melhores que os do grupo controle, enquanto que os animais submetidos ao PI 48 horas antes do pinçamento aórtico, apresentaram recuperação neurológica variável. MATSUYAMA et al. (1997)⁵² estudaram os efeitos do PI do cordão espinhal utilizando um modelo de pinçamento aórtico em cães. O grupo do PI foi submetido a 20 minutos de pinçamento aórtico, seguido de um período de isquemia medular de 60 minutos, 48 horas após. No período de recuperação, três dos seis cães do grupo controle apresentaram paraplegia, enquanto nenhum dos animais do grupo do PI ficou paraplégico.

Outros autores confirmaram os efeitos do PI tardio na prevenção das lesões isquêmicas da medula espinhal em várias espécies animais ^{2,74,75,89}.

A fase tardia do PI pode ser explicada a partir de mudanças na expressão genética das proteínas protetoras do sistema nervoso, como as HSP ^{20,38,48,51,74}. MATSUYAMA et al. (1997) ⁵² estudaram o mecanismo de aparecimento das HSP, encontrando correlação positiva entre seu aparecimento e a proteção neurológica, fato também apontado por MUNYAO et al. (1998) ⁵⁷. Paralelamente, SAKURAI et al. (1998) ⁷⁵ demonstraram em coelhos o aparecimento da HSP 70 e do RNAm 8 horas após o pré-tratamento, concluindo que as mudanças nas proteínas e na expressão genética tem um papel importante no desenvolvimento da tolerância isquêmica das células neuronais. A associação entre o aparecimento das HSP e a maior tolerância dos tecidos nervosos à isquemia também tem sido relatada em estudos sobre proteção cerebral ^{39,40}.

Por outro lado, o estudo de DE HAAN et al. (2000) ²⁰ contrasta com os resultados relatados, sendo observado em modelo experimental de PI em coelhos o aumento da HSP, sem melhora do desempenho neurológico e com alta incidência de paraplegia. O período de indução do PI neste estudo, no entanto, parece ter sido muito curto em relação ao intervalo estabelecido entre este evento e a agressão isquêmica medular. A este respeito, MATSUMOTO et al. (2001) ⁵¹ elucidaram o perfil temporal do PI em coelhos, cujo tempo de isquemia foi estabelecido a partir da monitorização dos PESS. Os autores estudaram tempos de reperfusão que foram variaram de 2 a 7 dias, observando que o efeito protetor do PI apareceu no quarto dia

de reperfusão e que os níveis de HSP70 se elevaram progressivamente até o sétimo dia. Recentemente, CIZKOVA et al. (2004)¹⁶ observaram que o tempo pico de expressão da HSP72 aconteceu 24 horas após o PI em ratos, sendo a sua ocorrência mais intensa no grupo de animais submetidos a um maior tempo isquemia. Resultados similares foram encontrados por CARMEL et al. (2004)¹³ no mesmo modelo experimental.

Estudando o cérebro, alguns autores também demonstraram a maior tolerância das células nervosas à isquemia com o PI envolvendo longos intervalos de reperfusão^{39,40}. Evidências recentes, porém, sugerem que a reperfusão por intervalos de tempo mais curtos, geralmente em torno de 6 horas, também proporciona proteção às células neuronais^{1,66,67,39,40}.

Em relação aos efeitos imediatos do PI sobre o cordão medular, vários autores têm demonstrado resultados positivos com este procedimento em diversas espécies animais. ZVARA et al. (1999)¹⁰⁰ demonstraram o efeito protetor do PI obtido agudamente pela indução de 3 minutos de isquemia, seguidos de 30 minutos de reperfusão, num modelo experimental de isquemia do cordão espinhal, com duração de 12 minutos, em ratos. Paralelamente, SIRIM et al. (2002)⁸⁰ sugeriram que o PI, com 5 minutos de isquemia e 25 minutos de reperfusão, reduz a injúria do cordão espinhal em coelhos, melhorando o seu desempenho neurológico após 20 minutos de isquemia. Resultados semelhantes também foram observados por TOUMPOULIS et al. (2003)⁹⁰, que realizaram o PI por 20 minutos, seguidos de 80 minutos de reperfusão, antes da agressão isquêmica da medula espinhal por 35 minutos em suínos.

O mecanismo envolvido no PI imediato da medula espinhal parece estar relacionado à elevação do fluxo sanguíneo do cordão espinhal⁶⁰. Este fato pode ser correlacionado com um leve incremento de catecolaminas, especialmente da norepinefrina, que pode estimular a produção do AMP cíclico através do sistema da adenilciclase, o que indica que existe um incremento da atividade metabólica do cordão espinhal³⁰.

A este respeito, FAN et al. (1999)²⁴ mostraram que um pequeno incremento de norepinefrina e de 5-hidroxitriptamina depois de 5 minutos de PI e 20 minutos de reperfusão, pode se correlacionar com a elevação do fluxo sanguíneo do cordão espinhal em coelhos, podendo prevenir o comprometimento da função medular após 30 minutos de isquemia. Este mecanismo também foi sugerido por UENO et al, (2001)⁹¹, que concluíram que o PI pode aumentar o fluxo sanguíneo do cordão medular, contribuindo para diminuir a incidência de paraplegia.

Por outro lado, alguns autores não têm conseguido demonstrar os efeitos positivos do PI imediato na prevenção da lesão isquêmica da medula espinhal^{20,72,91}, fato que pode estar relacionado aos períodos de isquemia e de reperfusão necessários para a efetiva indução dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos neste fenômeno.

2. Materiais e Métodos

Este estudo foi realizado pela Unidade Cirúrgica de Pesquisa do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, no Serviço de Fisiologia Aplicada e contou com o apoio do Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

A aprovação para a realização deste trabalho experimental em cães, ocorreu na sessão 381/01/03 de 8/3/01, Protocolo de Pesquisa SDC – 1842/01/30 pela Comissão Científica e de Ética do Instituto do Coração, e pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 11/04/01 , como Protocolo de Pesquisa n° 197/01.

Os cães utilizados foram fornecidos pelo Biotério da Zoonose – Centro de Controle de Animais da Prefeitura do Município de São Paulo. Para a manipulação desses animais em laboratório, foram respeitadas as diretrizes da National Institute of Health (USA), descritas no “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”. Após o estudo piloto, foram

estudados, de forma consecutiva, 21 cães adultos, sem raça definida, machos ou fêmeas, com o peso variando entre 15 e 25 kg.

2.1. Estudo Piloto

O grupo piloto foi constituído de 11 animais e teve como objetivo a padronização do modelo experimental. Seis animais foram submetidos a isquemia medular, por período de 45 minutos e cinco por período de 60 minutos, através de duplo pinçamento da aorta torácica descendente. Os animais submetidos a 60 minutos de isquemia, apresentaram elevada taxa de mortalidade, sendo por isto optado pelo período de 45 minutos para a realização deste experimento.

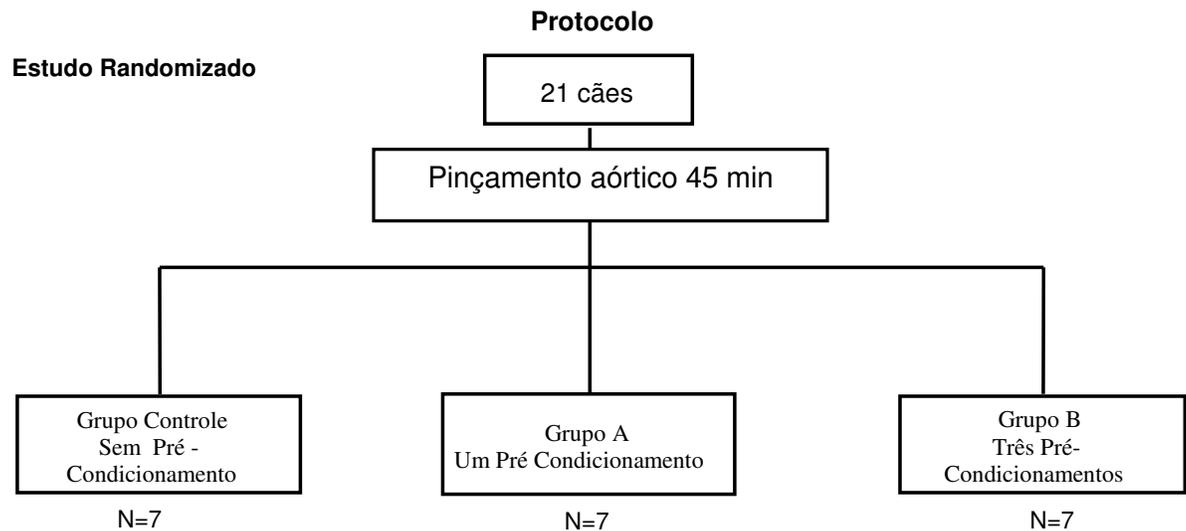
Paralelamente, foi aperfeiçoada a monitorização dos PESS, que no início do experimento era realizada em três pontos: cervical, dorsal e lombar. Foi observado que o melhor formato de ondas e o ponto mais acessível para o pesquisador era na transição tóraco-lombar.

Cinco animais foram observados no período pós-operatório por 7 dias, sendo optado pelo tempo de observação de 72 horas, porque não houve alteração dos índices de Tarlov⁸⁶ observados nas primeiras 24 horas.

2.2 Padronização do Modelo Experimental

Os animais foram divididos de forma randomizada em três grupos de sete cães:

- Grupo Controle – Os animais foram submetidos a duplo pinçamento da aorta durante 45 minutos, obtido através da colocação da pinça proximal 1 cm abaixo da artéria subclávia esquerda e distal, 1 ou 2 cm acima do diafragma.
- Grupo A – Neste grupo o duplo pinçamento da aorta, por 45 minutos foi precedido por um período de PI, baseado na monitorização dos PESS. Durante o período de PI, a oclusão da aorta foi mantida até a queda das amplitudes do componente N1 dos PESS abaixo de 60% do seu valor original, sendo seguida por um período de recuperação (reperusão), que foi mantido até a recuperação total dos PESS.
- Grupo B – Neste grupo o duplo pinçamento da aorta por 45 minutos foi precedido por três períodos iguais de PI, cujos tempos de oclusão e reperusão da aorta foram determinados pela mesma metodologia descrita no Grupo A. (Diagrama).



2.2.1. Procedimento Anestésico

No biotério, após pesagem dos animais, realizou-se identificação da veia cefálica esquerda, anti-sepsia da região e venóclise periférica. O animal foi anestesiado, utilizando-se inicialmente 30 mg/Kg de peso de pentobarbital sódico. Sempre que necessário, esta dose recebeu suplementação durante o ato operatório, com o objetivo de abolir o reflexo córneo-palpebral. Se o animal apresentava tremor superficial, era curarizado com brometo de pancuronium na dose de 0,16 a 0,3 mg/kg.

Após a administração da dose inicial de anestésico, procedeu-se a entubação orotraqueal, utilizando-se sonda de polietileno. A assistência ventilatória iniciou-se com a conexão da cânula orotraqueal a um ventilador

a pressão (Ventilador-Inter-três, modelo 2600, Takaoka, São Paulo). Foi mantido um volume de 12 ml/Kg, a uma frequência respiratória aproximada de 12 movimentos por minuto, em ar ambiente, suficiente para manter uma pressão parcial de dióxido de carbono entre 35 e 45 mmHg e uma pressão parcial de oxigênio de 100 mmHg.

Estes parâmetros foram ajustados de acordo com medidas laboratoriais gasométricas em amostras de sangue colhidas das linhas arteriais. (Aparelho Nova Medical, Stat Profile Ultra, USA). Estas medidas incluirão os seguintes: potencial hidrogeniônico (pH), pressão de oxigênio (pO₂), pressão de gás carbônico (pCO₂) e saturação de oxigênio (SO₂). Também foram realizadas dosagens de eletrólitos: sódio (Na⁺) e potássio (K⁺), hemoglobina e hematócrito. Estas determinações foram feitas 10 minutos antes do pinçamento da aorta, aos 22 minutos do pinçamento e 10 minutos depois do início do período de reperfusão. De acordo com os resultados obtidos, os parâmetros do ventilador foram alterados durante o ato operatório para manter pCO₂ entre 35 e 45 mmHg e pH entre 7,25 e 7,40.

A figura 3 mostra o esquema de monitorização dos animais. Esta monitorização inclui parâmetros hemodinâmicos e os PESS.

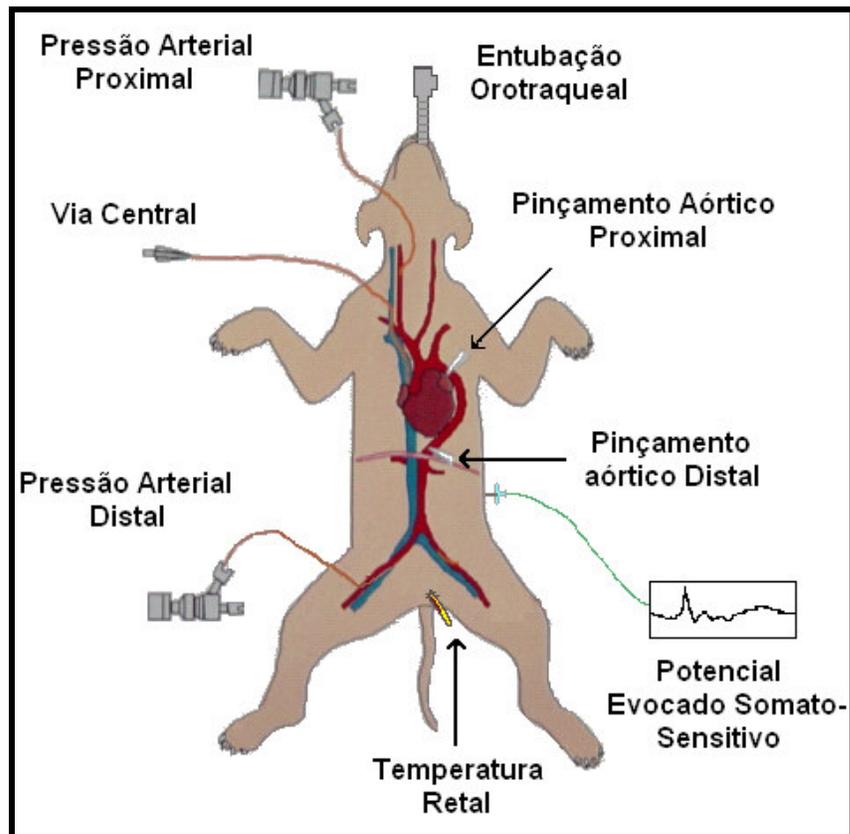


Figura 3: Representação esquemática da monitorização dos animais.

2.2.2. Monitorização Hemodinâmica

Foi realizada monitorização eletrocardiográfica contínua com eletrodos localizados nas patas dos animais e conectados a um computador que fornecia, por meio do programa Acqknowledge 3.0, informações contínuas do traçado eletrocardiográfico e da frequência cardíaca.

Foi feita dissecação da artéria carótida comum esquerda para introdução de um cateter Intracath 7F em direção à aorta, que foi conectado

a um transdutor de pressão e ao computador para fornecer, por meio do programa Acqknowledge 3.0 (Figura 4), informações contínuas sobre a pressão arterial média, que foi denominada pressão arterial média proximal. O mesmo procedimento foi realizado para a dissecação da artéria femoral direita, obtendo-se a pressão arterial média distal.

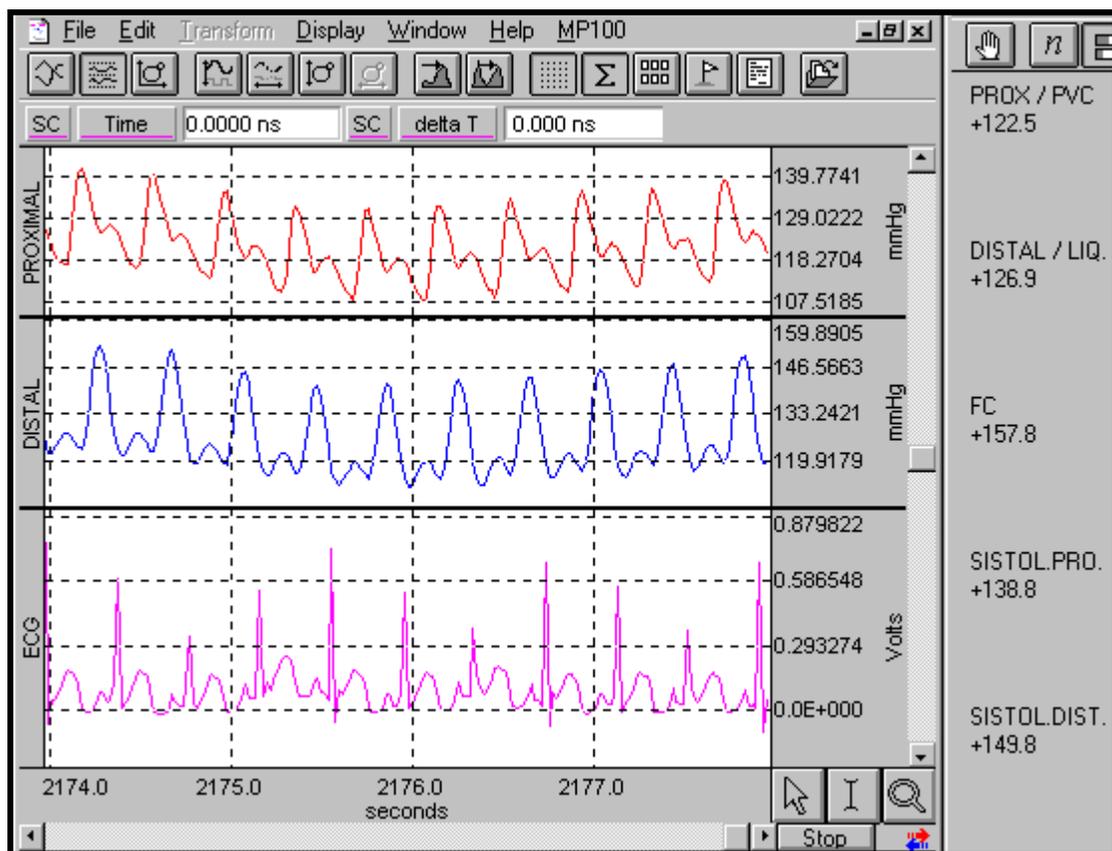


Figura 4: Monitorização hemodinâmica pelo programa Acqknowledge 3.0.

Foi realizada dissecação da veia jugular externa esquerda, empregada para a monitorização da pressão venosa central e como via para administração de soluções e medicamentos.

As medidas de frequência cardíaca, pressão arterial média proximal e distal foram anotadas 10 minutos antes do pinçamento da aorta, 22 minutos depois do pinçamento e 10 minutos depois do início do período de reperfusão. A temperatura do animal foi aferida por meio de termômetro colocado na via retal nos mesmos períodos citados anteriormente.

2.2.3. Monitorização dos Potenciais Evocados Somato-sensoriais

Com o animal em decúbito lateral direito, após antissepsia da região lombar, foi feita incisão longitudinal da pele e subcutâneo acima da décima segunda vértebra dorsal e primeira lombar. Em seguida, realizou-se punção do espaço peridural, com uma agulha de anestesia peridural N° 16, através da qual introduziu-se um eletrodo de prata, que foi conectado a uma máquina de geração e detecção de potenciais evocados (Medelec Sapphire 4ME).

Foram colocados outros eletrodos no sub-cutâneo da região adjacente e no vértice do crânio do animal, para funcionar como pontos de referência (Figura 5). O número de ondas promediadas na determinação dos PESS foi de 256, sendo o sinal analisado em uma amplitude de onda de 1 – 2 μ volts, foram empregados estímulos de 3 - 7 mA com duração de 500 μ s por pulso.



Figura 5: Eletrodos epidural e de referência conectados ao aparelho de registro dos Potenciais Evocados.

Os estímulos medulares foram gerados a partir de dois eletrodos (catodo e anodo) provenientes da máquina de potenciais, localizados na região subcutânea do sulco tibial do membro traseiro direito, correspondente à região do nervo tibial posterior.

O estímulo foi enviado através do nervo periférico, sendo capturado através da monitorização dos PESS na medula espinal. Os PESS foram determinados e gravados no pré-operatório, a cada minuto durante o período de PI, e a cada minuto por uma hora após o despinçamento da aorta (Figura 6).

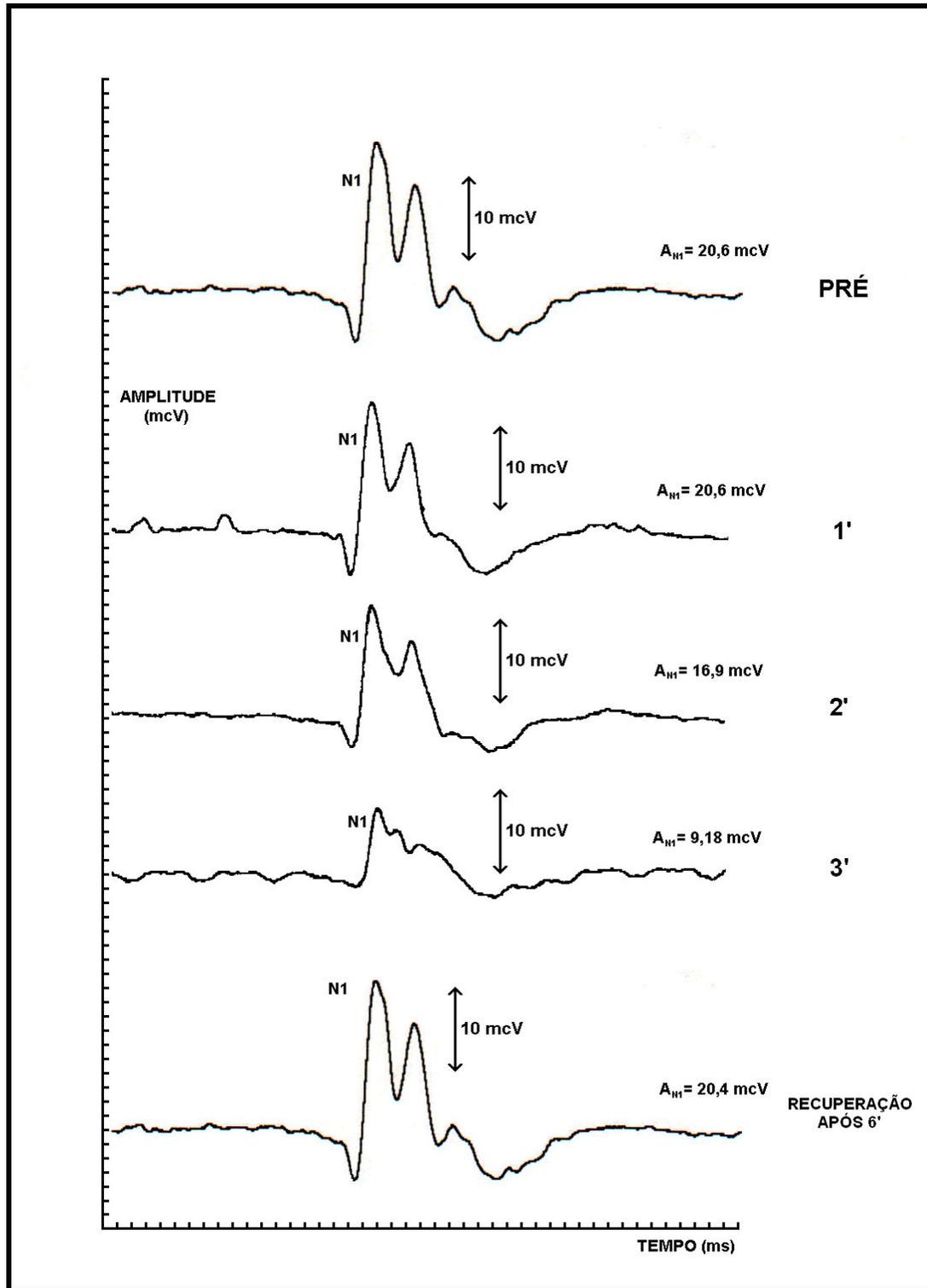


Figura 6: Queda e recuperação dos potenciais evocados somato-sensoriais durante o pré-condicionamento isquêmico medular.

2.2.4. Procedimento Cirúrgico

Com o animal em decúbito lateral direito, foi realizada antissepsia do hemitórax esquerdo com solução degermante e solução alcoólica de iodo, sendo a seguir colocados campos esterilizados. Previamente à incisão cutânea, realizou-se profilaxia antimicrobiana com injeção venosa de cefalotina na dose de 15 mg/Kg.

Procedeu-se à toracotomia por planos utilizando bisturi elétrico até atingir a cavidade torácica através do sétimo espaço intercostal. Foi aberta a pleura e afastado o pulmão para identificar a aorta torácica descendente em toda a sua extensão. Após a identificação da artéria subclávia esquerda, a pleura visceral que recobre a aorta descendente foi aberta, sendo colocado um cadarço ao redor da aorta acima da emergência das artérias intercostais dorsais. Identificou-se a linha diafragmática de reflexão pleural do cão e foi aberta a pleura visceral que recobre a aorta descendente distal 2 – 3 cm acima da mesma, sendo colocado um cadarço onde seria o local de pinçamento aórtico distal (Figura 7).

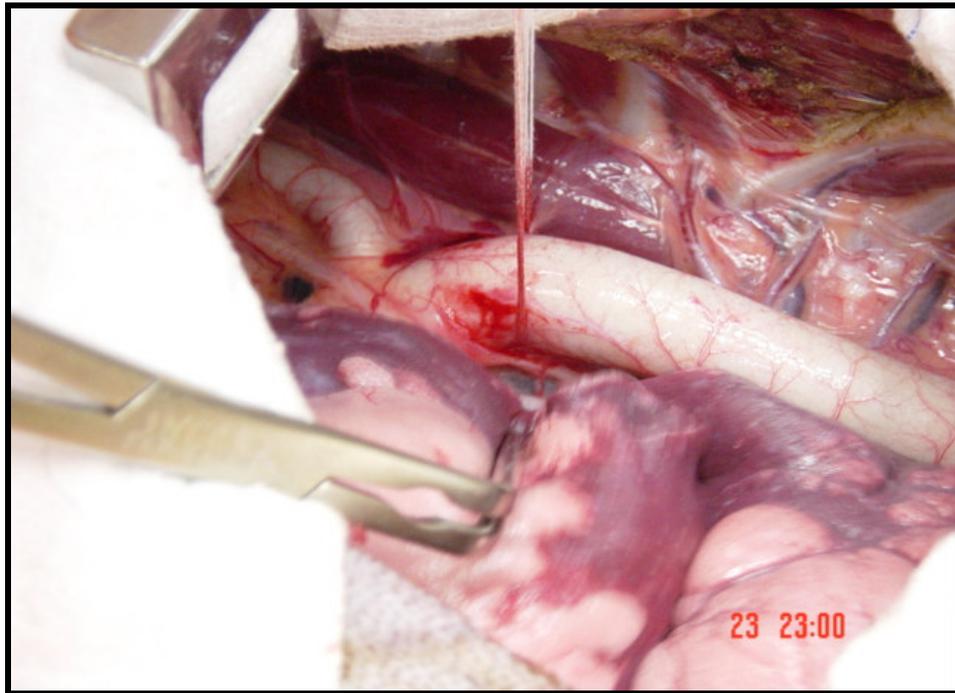


Figura 7: Dissecção e preparo da aorta proximal

Antes da realização do pinçamento aórtico, foi realizada heparinização sistêmica na dose de 100UI/Kg. Procedeu-se então ao duplo pinçamento da aorta através da colocação das pinças nos locais previamente descritos, sendo o mesmo confirmado pela queda imediata da pressão arterial média distal e pelo incremento da pressão arterial média proximal.

Ao finalizar o período de pinçamento aórtico segundo o grupo estudado, procedia-se à retirada das pinças e revisão da hemostasia. O tórax foi fechado com pontos em “X” entre os espaços intercostais, sendo feita manobra de valsalva para expandir os pulmões, desfazer atelectasias e retirar a maior quantidade de ar possível da cavidade, com o intuito de deixar

o mínimo de pneumotórax e não comprometer a dinâmica ventilatória do animal. Procedeu-se então ao fechamento das camadas musculares, do tecido sub-cutâneo e da pele através de sutura contínua hemostática.

Ao final do procedimento era dada uma dose endovenosa de 15 mg/Kg de cefalotina e uma dose intramuscular de 1200000 UI de penicilina benzatínica. Os cateteres arteriais, bem como os eletrodos utilizados para monitorização eram retirados e o animal era encaminhado para o biotério.

No biotério, os animais foram deixados entubados dentro da gaiola e conectados ao ventilador até conseguirem movimentos respiratórios espontâneos. A extubação foi realizada após a adequada recuperação do nível de consciência dos animais.

2.2.5. Avaliação Neurológica

Os animais foram observados por um período de 72 horas e submetidos à avaliação da recuperação sensitivo-motora das patas posteriores e cauda, segundo parâmetros clínicos para quantificar o estado neurológico utilizando os critérios de Tarlov:

Método de Tarlov:

- Grau 0 – Paraplegia ou membros inferiores não funcionantes.
- Grau 1 - Movimentos perceptíveis dos membros posteriores, sem ação antigravitacional.

- Grau 2 – Alguns movimentos dos membros posteriores sem adequada força antigravitacional, inabilidade de manter-se em pé ou sentar.
- Grau 3 – Consegue manter-se em pé e sentar, mas com dificuldades.
- Grau 4 – Recuperação motora completa.

Os animais serão classificados conforme o escore neurológico resultante: os animais com escore neurológico 0 ou 1 serão considerados paraplégicos, aqueles com escore 2 ou 3 serão considerados paraparéticos e aqueles com escore de 4 serão considerados normais (figura 8). Foram excluídos os que não completaram o período de observação de 72 horas, como realizado por Nylander et al. (1982)⁶¹.



Figura 8: Cão em escala de Tarlov 4.

2.3. Retirada e Avaliação Anátomo-Patológica das Medulas Espinhais

Após 72 horas de observação, os cães foram anestesiados com pentobarbital sódico na dose de 20 mg/Kg por via endovenosa e depois submetidos à eutanásia através da administração de 10 ml de solução de cloreto de potássio por via endovenosa.

Procedeu-se à retirada da coluna vertebral em bloco, através de incisão longitudinal desde a região cervical até a sacral. Foram desinseridos todos os arcos costais com auxílio de serra elétrica. O bloco da coluna vertebral foi retirado após a desinserção cranial da primeira vértebra cervical e da secção da quinta lombar com auxílio de serra elétrica. A seguir, foi feita a abertura da coluna através dos corpos vertebrais, sendo exposto o canal medular e todo o seu conteúdo. A medula foi retirada integralmente após a secção dos ramos de emergência dos nervos periféricos, através de um corte longitudinal na dura-máter (Figura 9).



Figura 9: Medula espinhal com a dura-máter aberta, evidenciando a artéria de Adamkiewickz.

Após a colocação em formol tamponado ao 10 %, os espécimes da medula foram encaminhados para o serviço de Anatomia Patológica do Hospital da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, onde um Neuropatologista procedeu à sua análise. Foram feitos cinco cortes por segmento para estudo com microscopia de luz, através da coloração de hematoxilina-eosina (HE), com o objetivo de identificar a presença de necrose e de infiltrado de células macrofágicas. As amostras foram classificadas em três grupos: normal, presença de exsudato de macrófagos e presença de necrose.

2.4. Análise Estatística

Os dados obtidos através da monitorização dos parâmetros hemodinâmicos e dos exames laboratoriais nos três grupos foram comparados através da análise de variância. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, complementado quando necessário pelo teste de Dunn, foi empregado na comparação dos resultados obtidos em relação à Escala de Tarlov e ao tempo de recuperação dos PESS. A existência de relação entre o tempo de recuperação dos PESS e a recuperação funcional dos animais foi avaliada através de teste de correlação de Spearman. O teste exato de Fisher foi empregado na confirmação da ocorrência desta relação e da avaliação da existência de relação entre o tempo de recuperação dos PESS e as alterações anátomo-patológicas decorrentes da isquemia medular. A

existência de diferenças entre os grupos em relação aos achados anátomo-patológicos foi pesquisada através do teste de Qui-quadrado. Os valores centrais são apresentados em média ou em mediana, sendo os valores de dispersão apresentados como desvio-padrão ou como intervalo de confiança de 95%. O nível de significância estabelecido para este estudo foi de 5%.

3. Resultados

O peso dos animais estudados foi semelhante nos três grupos, como mostra a Tabela 1. Os parâmetros como pH, pO₂, pCO₂ e SO₂ assim como a dosagem de Na⁺, K⁺ e hematócrito também apresentaram um comportamento semelhante e coincidente nos grupos estudados, não sendo observadas diferenças significativas entre eles.

Tabela 1. Peso médio dos animais nos diferentes grupos em Kg.

	Grupo controle	Grupo A	Grupo B
Média	19,9	19,8	21,0
Desvio Padrão	4,1	4,7	3,12

A análise das medidas de pressão arterial média, nos segmentos proximal e distal, foi realizada antes do duplo pinçamento da aorta, durante o mesmo e 10 minutos após a liberação das pinças nos grupos estudados (Tabelas 2, 3 e 4). Os três grupos comportaram-se de forma semelhante e coincidente ao longo dos momentos avaliados e não houve diferenças estatisticamente significativas entre as médias desta variável entre eles, nos

diferentes momentos. Aos 22 minutos de pinçamento aórtico, foi observada diferença estatisticamente significativa entre as medidas da pressão arterial média proximal e distal nos três grupos.

Tabela 2. Média das pressões arteriais médias proximal (PAMP) e distal (PAMD) antes da oclusão nos diferentes grupos em mmHg.

	Grupo Controle		Grupo A		Grupo B	
	PAMP	PAMD	PAMP	PAMD	PAMP	PAMD
Média	117,3	118,7	111,1	107,9	111,3	110,1
Desvio Padrão	13,9	13,4	20,4	18,7	8,8	8,9

Tabela 3. Média das PAMP e PAMD durante a oclusão nos diferentes grupos em mmHg.

	Grupo Controle		Grupo A		Grupo B	
	PAMP	PAMD	PAMP	PAMD	PAMP	PAMD
Média	121,4	11,3	105,9	16,1	114,4	12,7
Desvio Padrão	14,8	5,6	10,1	6,2	19,0	5,3

Tabela 4. Média das PAMP e PAMD após a liberação das pinças nos diferentes grupos em mmHg.

	Grupo Controle		Grupo A		Grupo B	
	PAMP	PAMD	PAMP	PAMD	PAMP	PAMD
Média	87,3	87,3	86,4	86,1	85,1	84,1
Desvio Padrão	7,1	6,8	11,5	9,9	9,0	9,3

3.1. Monitorização dos Potenciais Evocados Somato-sensoriais

Com base nos PESS foram determinados os tempos de oclusão e de reperfusão para o período de PI. A análise desta variável mostrou um comportamento semelhante entre os grupos A e B, como observado na tabela 5.

Tabela 5. Tempos médios de oclusão e reperfusão dos grupos pré-condicionados em minutos.

	Grupo A		Grupo B	
	Tempo oclusão	Tempo reperfusão	Tempo oclusão	Tempo reperfusão
Média	2,71	6,43	2,57	7,57
Desvio Padrão	0,49	1,51	0,53	1,62

Os tempos de recuperação dos PESS no período de reperfusão aórtica, após a retirada das pinças, mostraram um comportamento diferente entre os grupos, com uma recuperação mais rápida dos potenciais nos animais do grupo B, como mostra a Figura 10. No entanto, a diferença observada não foi significativa do ponto de vista estatístico ($p = 0,077$).

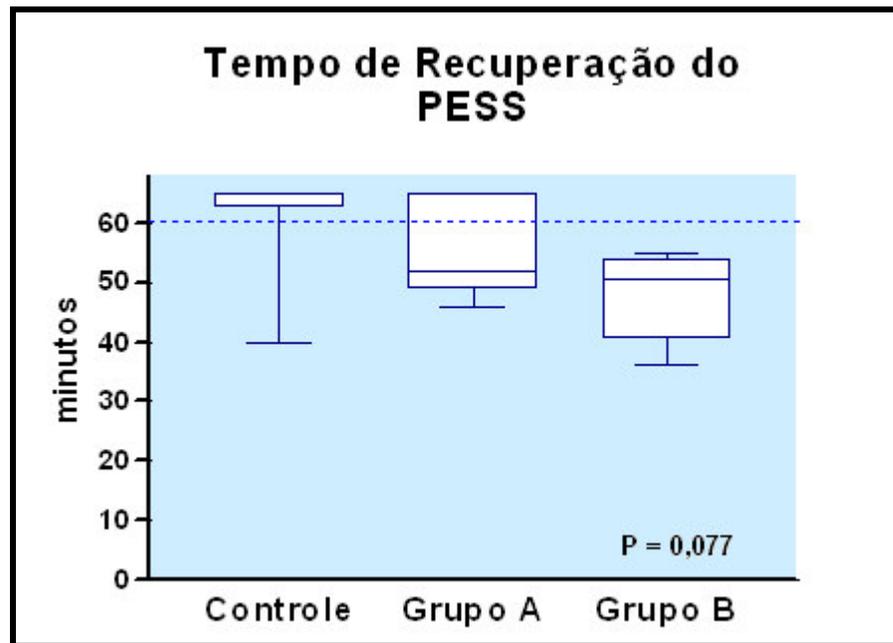


Figura 10: Tempos de recuperação dos potenciais evocados somato-sensoriais no período de reperfusão aórtica nos diferentes grupos.

3.2. Avaliação Neurológica

A avaliação neurológica realizada com 72 horas de pós-operatório mostrou que paraplegia completa foi observada em três animais do grupo Controle, em quatro do grupo A e em nenhum do grupo B, como mostra a Tabela 6.

Tabela 6. Avaliação neurológica segundo o método de Tarlov, nos diferentes grupos.

TARLOV	GRUPO CONTROLE	GRUPO A	GRUPO B
0	3	4	0
1	0	1	0
2	0	0	0
3	1	0	0
4	3	2	7

Quando comparados através da análise de Kruskal-Wallis, os resultados da escala de Tarlov apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, com um valor de $p = 0,0149$. O escore de Tarlov no grupo B foi significativamente melhor do que o observado no grupo Controle, não sendo o mesmo fato documentado como Grupo A, como mostra a Figura 11.

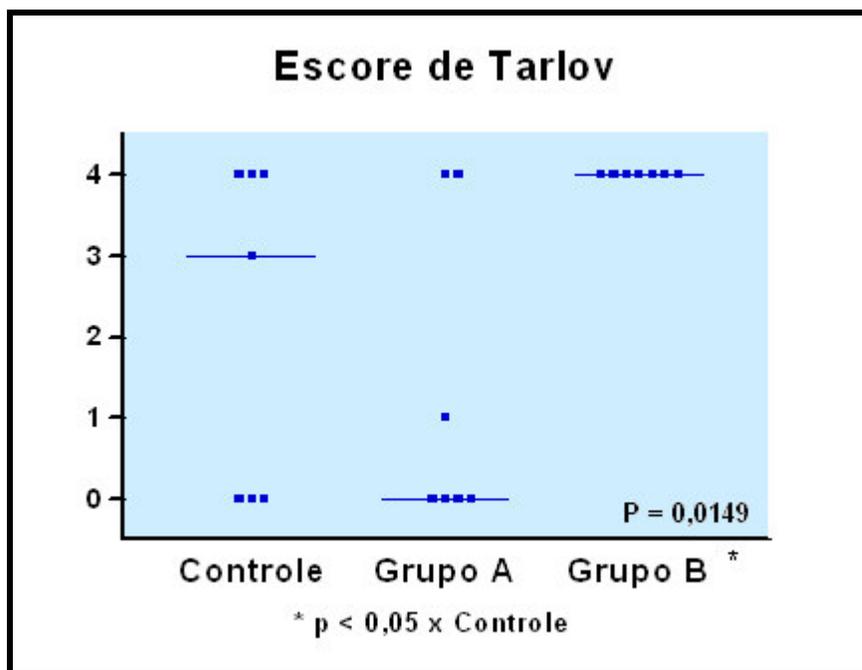


Figura 11: Correlação da avaliação neurológica segundo o método de Tarlov entre os grupos

3.3. Estudo Anátomo-Patológico

Os resultados do estudo anátomo-patológico estão na Tabela 7. A ocorrência de necrose ou de exsudado de macrófagos foi detectada em cinco animais do grupo controle, em três animais do Grupo A e em dois animais do Grupo B.

Esta diferença, no entanto, não foi significativa do ponto de vista estatístico.

As alterações descritas estão ilustradas na figura 12 (A,B,C como anterior sem necrose) e na figura 13 (D,E,F como anterior com necrose).

Tabela 7. Resultados da anatomia patológica.

Anatomia Patológica	Grupo Controle	Grupo A	Grupo B	Estatística
Presença de necrose	4	3	2	ns
Presença de exsudato de macrófagos	5	3	2	ns
Normal	2	2	5	ns

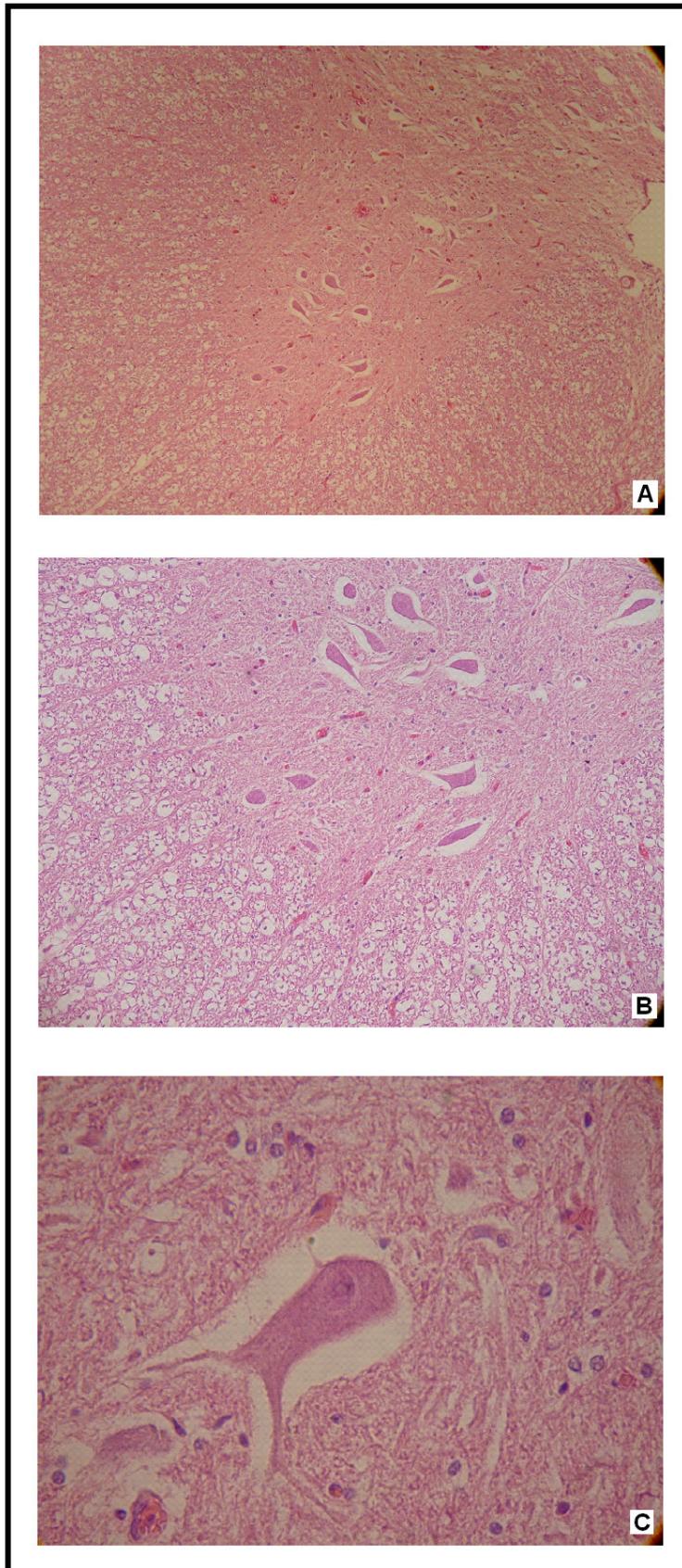


Figura 12:

A. corno anterior normal.
Hematoxilina e Eosina
10x.

B. corno anterior normal
Hematoxilina e Eosina
20x.

C. célula neuronal
normal Hematoxilina e
Eosina 40x.

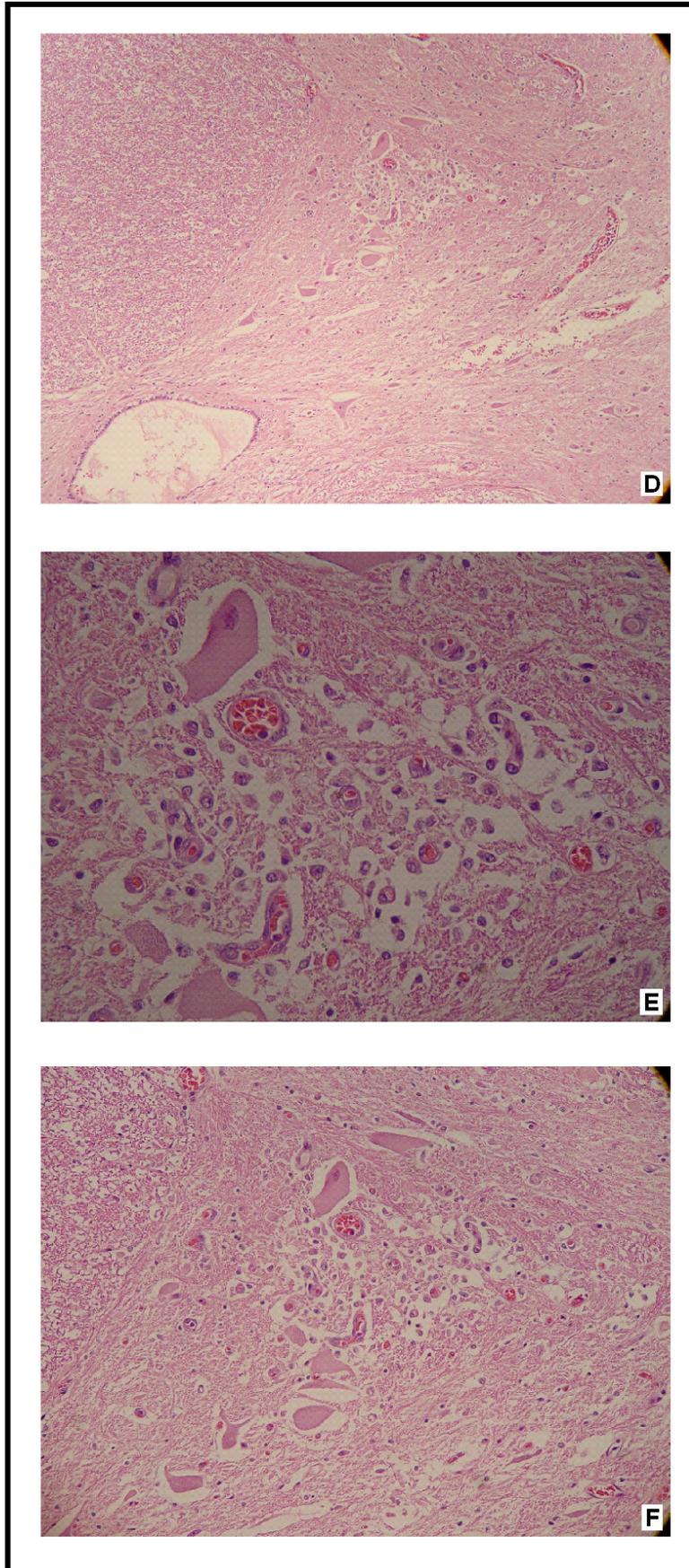


Figura 13:

D. Coluna de Clark
necrosada
Hematoxilina e
Eosina 10x;

E. Exsudato de
macrófagos desarranjo
estrutural do neuropilo,
células neuronais
degeneradas.
Hematoxilina e Eosina
20x;

F. Célula neuronal
necrosada com núcleo
excêntrico e picnótico
Hematoxilina e Eosina
40x.

3.4. Correlação entre Tempo de Recuperação dos PESS e Isquemia Medular

A Figura 14 mostra a existência de correlação significativa entre o tempo de recuperação dos PESS durante o período de reperfusão aórtica e o comprometimento neurológico dos animais, avaliado pela escala de Tarlov.

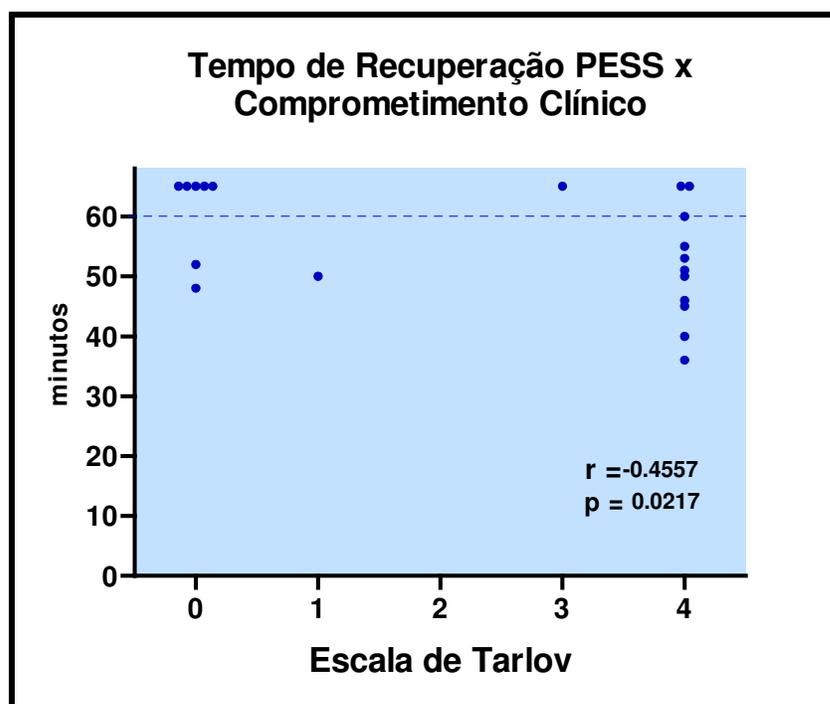


Figura 14: Correlação entre os tempos de recuperação dos potenciais evocados somato-sensoriais com a recuperação clínica.

Quando esta correlação é avaliada em relação à existência ou não de qualquer grau de comprometimento neurológico na presença de tempos de recuperação dos PESS acima de 60 minutos, também encontramos uma relação significativa ($p = 0,039$) pelo Teste Exato de

Fisher. Esta avaliação mostra a existência de um risco três vezes maior para a ocorrência destes eventos quando não existe a recuperação do PESS na primeira hora após a remoção das pinças (Risco relativo = 3, Intervalo de confiança de 0,86 a 10,41).

Por outro lado, a avaliação da existência de correlação entre o tempo de recuperação dos PESS durante o período de reperfusão aórtica e o comprometimento isquêmico da medula espinal, avaliado pelo estudo anátomo-patológico, não apresentou valores significativos do ponto de vista estatístico.

4. Discussão

Neste estudo, observou-se que o PI imediato pode acrescentar tolerância à isquemia da medula espinhal, ocasionada pelo duplo pinçamento da aorta torácica descendente em cães. A ocorrência deste fato está relacionada à adequada monitorização das alterações funcionais do cordão medular durante as fases de isquemia e de reperfusão, através da determinação intra-operatória dos PESS. Esta observação representa um passo importante para incluir o PI imediato como mais uma estratégia de proteção medular na cirurgia da aorta torácica descendente e tóraco-abdominal.

Alguns autores demonstraram que períodos isquêmicos de alguns minutos, antes da oclusão aórtica prolongada, podem prevenir a lesão isquêmica do cordão medular em animais de pequeno ^{13,80,100} e de grande porte ⁸⁹. Outros autores, no entanto, falharam em demonstrar o efeito protetor do PI imediato em experimentos com as mesmas espécies animais ^{72,91}. Fato semelhante pode ser observado em relação à indução da fase crônica do PI, que também apresenta uma variabilidade importante de resultados com os mesmos modelos experimentais ^{20,75}. Neste sentido, a

determinação dos tempos apropriados de isquemia e de reperfusão para a indução do PI parece ser o fator chave para o desenvolvimento da tolerância isquêmica imediata ou tardia⁵¹.

Neste trabalho, a monitorização dos PESS foi utilizada no diagnóstico das alterações funcionais do cordão espinhal, durante as fases de isquemia e de reperfusão necessárias para a indução do PI imediato. Com o conhecimento dos efeitos da isquemia sobre as variações da amplitude e da latência das ondas dos PESS, torna-se possível se avaliar o nível de alterações induzidas na medula espinhal durante esse processo^{24,79}. A deterioração do componente de onda N1 é indicativa da diminuição da condução sensorial do cordão espinhal posterior e lateral, sugerindo a existência de comprometimento da perfusão^{15,60}. Durante o processo isquêmico, pode-se observar também o desaparecimento progressivo dos outros componentes de onda dos PESS, os quais se normalizam após a reperfusão.

De acordo a anatomia vascular do cordão espinhal, diferentes tipos de resposta dos PESS têm sido identificados e usados como indicadores da necessidade de utilizar medidas profiláticas para atenuar a isquemia do cordão espinhal^{60,71}. Neste modelo experimental, utilizou-se a diminuição da amplitude da onda N1 dos PESS abaixo de 60% para definir a fase de isquemia dos ciclos de indução do PI. Esta seleção foi baseada na sensibilidade que os PESS têm de se alterarem frente a hipoperfusão regional e no fato de que a isquemia prolongada do cordão espinhal pode resultar em uma degradação completa do sinal, indicando total ausência de

condução e sofrimento celular. Diferentemente deste estudo, MATSUMOTO et al. (2001)⁵¹ utilizaram o tempo em que as ondas N3 e N4 dos PESS ficavam isoelétricas, como intervalo apropriado de indução da tolerância isquêmica tardia. As ondas N1 e N2 são componentes pré-sinápticos, o que contrasta com o comportamento das ondas N3 e N4, sugestivas de origem pós-sináptica⁴⁷. No entanto, a diminuição da amplitude do componente N1 ocorre concomitantemente à perda completa do sinal dos componentes N3 e N4 frente a um evento isquêmico medular, como demonstrado por CHENG et al. (1984)¹⁵.

Tão importante como a determinação do tempo de diminuição da onda N1 durante a isquemia, foi a determinação do tempo de sua recuperação durante o período de reperfusão, para se definir os períodos adequados para a obtenção do PI neste estudo. Como a recuperação completa dos PESS depende da normalização da função dos tratos sensitivos da medula espinhal, este período nos pareceu suficiente para a indução dos mecanismos bioquímicos e celulares envolvidos no PI imediato, à semelhança do que se observa em relação ao miocárdio^{30,46,84}. Neste sentido, a grande variabilidade observada em relação aos tempos de reperfusão necessários para a normalização dos PESS neste modelo experimental, comprova a influência da diversidade anatômica da vasculatura do cordão medular, mesmo entre animais da mesma espécie.

Também existe controvérsia em relação ao número de ciclos de isquemia sub-letal necessários para a indução da tolerância isquêmica na medula espinhal^{30,46,88}. MURRY et al. (1986)⁵⁸ estabeleceram que quatro

ciclos de 5 minutos de oclusão coronária e 5 minutos de reperfusão seriam suficientes para a obtenção do PI em corações de cães. Paralelamente, existem evidências que no mínimo dois ciclos de 2 a 3 minutos de isquemia, seguidos de 2 minutos de reperfusão, são necessários para pré-condicionar o miocárdio humano^{88,98}.

Com base na experiência com o miocárdio, testou-se neste trabalho a efetividade de um e de três ciclos de isquemia, seguidos de reperfusão, como condição para a indução do PI imediato na medula espinhal. Observamos que foi somente através do PI repetitivo que conseguimos ser eficientes na prevenção da injúria do cordão espinhal decorrente da oclusão da aorta torácica descendente. No entanto, é importante se ressaltar que os resultados observados com apenas um ciclo de isquemia e reperfusão neste estudo, podem ter sido influenciados pela ocorrência de meningite hemorrágica em dois dos animais deste grupo de estudo.

A definição dos períodos de isquemia e de reperfusão necessários para a indução do PI neste trabalho, a partir da monitorização dos PESS, nos permite discutir também porque alguns estudos não têm conseguido demonstrar o benefício do PI agudo da medula espinhal^{72,91}. Nestes estudos, provavelmente foram utilizados tempos de isquemia muito reduzidos, não permitindo à célula o desencadeamento dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos no PI. CHENG et al. (1984)¹⁵ demonstraram que as ondas N1 desaparecem somente após 6 minutos de isquemia em modelo de isquemia do cordão espinhal em coelhos e os trabalhos que não tiveram

sucesso com a indução do PI imediato nessa espécie animal, utilizaram tempos de isquemia entre 1 e 3 minutos^{72,91}. Os trabalhos de MATSUMOTO et al.(2001)⁵¹, MUNYAO et al.(1998)⁵⁷, SAKURAY et al.(1998)⁷⁵ e TOUMPOULIS et al. (2003)⁸⁹, por outro lado, utilizaram períodos mais longos de isquemia, obtendo bons resultados na indução do PI imediato. Como a resposta dos PESS à indução isquêmica do cordão espinhal parece ser mais precoce em cães^{7,30}, está justificado o uso de períodos mais curtos de oclusão aórtica nos ciclos de PI no presente protocolo experimental.

Os mecanismos envolvidos na indução do PI imediato não foram abordados neste estudo experimental. No entanto, podemos especular que os efeitos observados devem estar associados ao aumento do fluxo sanguíneo medular e a ativação dos receptores de adenosina, como sugerido por outros autores^{30,16,91,97}. Estes mecanismos correspondem às modificações imediatas desencadeadas pelo PI, cujo resultado tardio será a alteração da expressão genética das proteínas protetoras do sistema nervoso^{16.,20,30,51,52,99}. Neste sentido, é importante salientarmos que o nível de liberação dessas proteínas, bem como o tempo necessário para a ocorrência dessa liberação, nos modelos de PI tardio da medula espinhal, também dependem do período de isquemia empregado na indução do fenômeno¹³. Este fato encontra suporte nas observações de que o tempo necessário para desenvolver proteção tardia é variável também no miocárdio^{26,46,51}.

Por outro lado, existe uma variação interespecies considerável na duração da proteção dada pelo componente imediato do PI. A proteção

cardíaca se perde depois de 30 minutos de reperfusão no coração de coelhos⁹⁴, em 1 hora no coração de ratos,⁴⁶ em 2 horas em cães,⁵⁹ e a duração da proteção imediata em humanos é desconhecida.

Este fato pode explicar porque alguns animais submetidos ao PI repetitivo neste trabalho, apesar de não apresentarem lesão neurológica clinicamente detectável durante o período de observação, apresentaram alterações histopatológicas significativas. Estas alterações foram caracterizadas pela presença de exsudato de macrófagos e necrose em quase 30 % dos animais daquele grupo de estudo e abrem a possibilidade da ocorrência tardia de disfunção medular. Esta observação, no entanto, está em desacordo com os resultados apresentados por ABRAHAM et al. (2000)², que mostraram uma surpreendente redução da ocorrência tardia de lesão neurológica em um modelo de PI em ratos. Por outro lado, KAKIMOTO et al. (2003)³⁴, estudando o PI agudo em coelhos, observaram que animais sem lesão clínica nas primeiras 24 horas apresentaram paraplegia no sétimo dia após a reperfusão, sugerindo que a eficácia do PI imediato pode ser transitória.

Outro aspecto relevante abordado neste estudo experimental se refere a monitorização do tempo de recuperação dos PESS após o insulto isquêmico medular. A recuperação da amplitude do sinal das ondas que compõe o PESS após a reperfusão medular, têm sido relacionada por vários autores ao nível de comprometimento funcional da medula observado após os procedimentos estudados^{51,60,71,79}. Este fato também foi documentado neste estudo, onde foi possível se observar a recuperação completa dos

PESS, durante os primeiros 60 minutos após a reperfusão da aorta, em todos os animais submetidos ao PI repetitivo, situação que não se repetiu, por outro lado, nos outros grupos de estudo. A recuperação completa dos PESS sugere a existência de um comprometimento imediato menos importante dos tratos de condução sensitiva da medula espinhal.

O presente trabalho apresenta várias limitações. O tempo de seguimento dos animais não foi provavelmente suficiente, para se observar a possível deterioração tardia da função medular nos casos que apresentaram evidências de comprometimento anátomo-patológico. Além disso, não houve nenhuma avaliação dos mecanismos bioquímicos e celulares envolvidos no processo de PI imediato. Entretanto, foi possível se demonstrar que algum grau de tolerância à isquemia pode ser obtido na medula espinhal frente a um evento isquêmico relevante clinicamente, através do PI imediato, desde que ele esteja baseado na adequada seleção dos tempos de indução e de reperfusão.

Novos experimentos estão sendo conduzidos em nossos laboratórios para elucidar melhor o mecanismo envolvido no processo de PI imediato, bem como para avaliar a possibilidade de associar o PI com outros métodos de proteção utilizados na prevenção da isquemia do cordão espinhal. A continuidade destes estudos talvez abra a perspectiva para o emprego clínico do PI, baseado na monitorização dos PESS, nas cirurgias de correção das afecções da aorta torácica descendente e tóraco-abdominal. Neste sentido, é importante se destacar que a avaliação intra-operatória dos PESS já é empregada rotineiramente em vários serviços de

cirurgia cardíaca, constituindo-se em um método de grande valia para a escolha adequada das diferentes abordagens empregadas na proteção medular^{19,44,60,71,84,96}.

5. Conclusões

Os resultados observados neste estudo nos permitem concluir que:

1. O pré-condicionamento isquêmico imediato, baseado na monitorização dos potenciais evocados somato-sensoriais, quando realizado de forma repetitiva, parece diminuir o aparecimento de lesões isquêmicas da medula espinal durante a oclusão da aorta torácica descendente em cães, resultando em menos incidência de paraplegia.
2. O tempo elevado de recuperação dos potenciais evocados somato-sensoriais, após período de oclusão da aorta torácica descendente, apresenta correlação significativa com a ocorrência de paraplegia neste modelo experimental.

6. Referências Bibliográficas

1. ABE, H.; KUMAGA, I.T.; TAKEUCHI, S.; TANAKA, R.; NOWAK, T.S. JR. Middle cerebral artery occlusion induces depolarization, immediate early genes expression and ischemic tolerance in the ipsilateral hippocampus of gerbils. **J. Cereb. Blood Flow Metab.**, v.17, p.S447, 1997.
2. ABRAHAM, V.S.; SWAIN, J.A.; FORGASH, A.J.; WILLIAMS, B.L.; MUSULIN, M.M. Ischemic preconditioning protects against paraplegia after transient aortic occlusion in the rat. **Ann. Thorac. Surg.**, v.69, p.475-9, 2000.
3. ACHER, C.W.; WYNN, M.M. Multifactoral nature of spinal cord circulation. **Semin. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v.10, p.7-10, 1998.
4. AGEE, J.M.; FLANAGAN, T.; BLACKBOURNE, L.H.; KRON, I. L.; TRIBBLE, C.G. Reducing postischemic paraplegia using conjugated superoxide dismutase. **Ann. Thorac. Surg.**, v.51, p.911-4; 1991.

5. AMINOFF, M. J. Estudios electrofisiológicos del Sistema nervioso central y periférico. Principios de Medicina Interna. Harrison 13^a Ed. Interamericana. Mc Graw Hill. Vol. II. Cap. 366. pp 2551 – 2558. 1994.
6. BLAISDELL, F.W.; COOLEY DA. The mechanism of paraplegia after temporary thoracic aortic occlusion and its relationship to spinal fluid pressure. **Surgery**, v.51, p.351-5, 1963.
7. BOWER, T.C.; MURRAY, M.J.; GLOVICZKI, P.; YAKSH, T.L.; HOLLIER, L.H.; PAIROLERO, P.C. Effects of thoracic aortic occlusion and cerebrospinal fluid drainage on regional spinal cord blood flow in dogs: correlation with neurologic outcome. **J. Vasc. Surgery.**, v:9, p.135-44, 1989.
8. BRAUNWALD, E.; KLONER, R.A. The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. **Circulation**, v:66, p.1146-9, 1982.
9. BUFFOLO, E.; DA FONSECA, J.H.; DE SOUZA, J.A.; ALVES, C.M. Revolutionary treatment of aneurysms and dissections of descending aorta: the endovascular approach. **Ann. Thorac. Surg.**, v.74, p.S1815-7, 2002.

10. CAMBRIA, R.P.; DAVISON, J.K.; CARTER, C.; BREWSTER, D.C.; CHANG, Y.; CLARK, K.A.; ATAMIAN, S. Epidural cooling for spinal cord protection during thoracoabdominal aneurysm repair: A five-year experience. **J. Vasc. Surg.**, v.31, p. 1093-102. 2000.

11. CAPARRELLI, D.J.; CATTANEO S.M.; BETHEA B.T.; SHAKE. J.G.; EBERHART, C.; BLUE, M.R. Pharmacological preconditioning ameliorates neurological injury in a model of spinal cord ischemia. **Ann. Thorac. Surg.**, v.74, p.838-45, 2002.

12. CARLSON, D.E.; KARP, R.B.; KOUCHOUKOS, N.T. Surgical treatment of aneurysm of the descending thoracic aorta: an analysis of 85 patients. **Ann. Thorac. Surg.**, v.35, p.58-69, 1983.

13. CARMEL, J.B.; KAKINOHANA, O.; MESTRIL, R.; YOUNG, W.; MARSALA, M.; HART, R.P. Mediators of ischemic preconditioning identified by microarray analysis of rat spinal cord. **Exp. Neurol.**, v.185, p.81-96, 2004.

14. CARTIER, R.; ORSZULAK, T.A.; PAIROLERO, P.Q.; SCHAFF, H.V. Circulatory support during crossclamping of the descending thoracic aorta. Evidence of improved organ perfusion. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v.99, p.1038-46, 1990.

15. CHENG, M.K.; ROBERTSON, C.; GROSSMAN, R.G.; FOLTZ, R.; WILLIAMS, V. Neurological outcome correlated with spinal evoked potentials in a spinal cord ischemia model. **J. Neurosurg.**, v.60, p.786-95, 1984.
16. CIZCOVA, D.; CARMEL, J.B.; YAMAMOTO, K.; KAKINOHANA, O.; SUN, D.; HART, R.P.; MARSALA, M. Characterization of spinal HSP72 induction and development of ischemic tolerance after spinal ischemia in rats. **Exp. Neurol.**, v.185, p.97-108, 2004.
17. COOLEY, D.A.; BALDWIN, R.T. Technique of open distal anastomosis for repair of descending thoracic aortic aneurysms. **Ann. Thorac. Surg.**, v.54, p.932-936, 1992.
18. COSELLI, J.S.; LEMAIRE, S.A.; KOKSOY, C.; SCHMITTLING, Z.C.; CURLING, P.E. Cerebrospinal fluid drainage reduces paraplegia after thoracoabdominal aortic aneurysm repair: results of a randomized clinical trial. **J. Vasc. Surg.**, v.35, p.631-9, 2002.
19. CRAWFORD, E.S.; MIZRAHI, E.M.; HESS, K.R.; COSELLI, J.S.; SAFI, H.J.; PATEL, V.M. The impact of distal aortic perfusion and somatosensory evoked potential monitoring on prevention of paraplegia after aortic aneurysm operation. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v.95, p.357-67, 1988.

20. DE HAAN, P.; VANICKY, I.; JACOBS, M.J.; BAKKER, O.; LIPS, J.; MEYLAERTS, S.A.; KALKMAN, C.J. Effect of ischemic pretreatment on heat shock protein 72, neurologic outcome, and histopathologic outcome in a rabbit model of spinal cord ischemia. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v.120, p.513-9, 2000.
21. DELROSSI, A.J.; CERNAIANU, A.C.; CILLEY, J.H.; SPENCE, R.K.; CAMISHION, R.C.; YAN, Y.; COSTABILE, J.P.; VERTREES, R.A. Preventive effect of fluosol-DA for paraplegia encountered after surgical treatment of the thoracic aorta. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v.99, p.665-9, 1990.
22. DOWNEY, J.M.; GUANG, S.L.; THORNTON, J.D. Adenosine and the anti-infarct effects of preconditioning. **Cardiovasc. Res.**, v.27, p.3-8, 1993.
23. EISEN, A.; FISMAN, E.Z.; RUBENFIRE, M.; FREIMARK, D.; MCKECHNIE, R.; TENENBAUM, A.; MOTRO, M.; ADLER, Y. Ischemic preconditioning: nearly two decades of research. A comprehensive review. **Atherosclerosis**, v.2, p.201-10, 2004.
24. FAN, T.; WANG, C.C.; WANG, F.M.; CHENG, F.; QIAO, H.; LIU, S.L.; GUO, W.; XIANG, F.Y. Experimental study of the protection of ischemic

- preconditioning to spinal cord ischemia. **Surg. Neurol.**, v.52, p.299-305, 1999.
25. FORMAN, M.B.; VELASCO, C.E.; JACFSON, E.K. Adenosine attenuates reperfusion injury following regional myocardial ischemia. **Cardiovasc. Res.**, v.27, p.9-17, 1993.
26. GEFT, I.L.; FISHBEIN, M.C.; NINOMIYA, K.; HASHIDA, J.; CHAUX, E.; YANO, J.; Y-RIT, J.; GENOV, T.; SHELL, W.; GANZ, W. Intermittent brief periods of ischemia have cumulative effect and may cause myocardial necrosis. **Circulation**, v.66, p.1150-3, 1982.
27. GHARAGOZLOO, F.; NEVILLE JR, R.F.; COX, J.L. Spinal cord protection during surgical procedures on the descending thoracic and thoracoabdominal aorta: A critical overview. **Semin Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v.10, p.73-86, 1998.
28. GRABITZ, K.; FREYE, E.; SANDMANN, W. Somatosensory evoked potential, a prognostic tool for the recovery of motor function following malperfusion of the spinal cord: studies in dogs. **J. Clin. Monit.**, v.9, p.191-5, 1993.
29. GRAVEREAUX, E.C.; FARIES, P.L.; BURKS, J.A.; LATESSA, V.; SPIELVOGEL, D.; HOLLIER, L.H.; MARIN, M.L. Risk of spinal cord

ischemia after endograft repair of thoracic aortic aneurysms. **J. Vasc. Surg.**, v.34, p.997-1003, 2001.

30.HAWALESHKA, A.; JACOBSON, E. Ischemic preconditioning: mechanisms and potential clinical applications. **Can. J. Anaesth.**, v.45, p.670-82, 1998.

31.HESS, P.J.; HOWE JR, H.R.; ROBICSEK, F.; DAUGHERTY, H.K.; COOK, J.W.; SELLE, J.G.; STIEGEL, R.M Traumatic tears of the thoracic aorta: Improved results using the Bio-Medicus pump. **Ann. Thorac. Surg.**, v.48, p.6-9, 1989.

32.HOLLIER, L.H.; MOORE, W.M: Avoidance of renal and neurologic complications following thoracoabdominal aortic aneurysm repair. **Acta. Chir. Scand.**, v.555, p.129-35,1990.

33.ISBIR, C.S.; AK, K.; KURTKAYA, O.; ZEYBECK, U.; AKUGUN, S.; SCHEITAUER, B.W.; SAV, A.; COBANOGLU, A. Ischemic preconditioning and nicotinamide in spinal cord protection in an experimental model of transient aortic occlusion. **Eur. J. Cardiothoracic. Surg.**, v.23, p.1028-33, 2003.

34.KAKIMOTO, M.; KAWAGUCHI, M.; SAKAMOTO, T.; INOUE, S.; FURUYA, H.; NAKAMURA, M.; KONISHI, N. Evaluation of rapid ischemic

preconditioning in a rabbit model of spinal cord ischemia. **Anesthesiology**, v.99, p.1112-7, 2003.

35.KATZ, N.M.; BLACKSTONE, E.H.; KIRKLIN, J.W.; KARP, R.B. Incremental risk factors for espinal cord injury following operation for acute traumatic aortic transection. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v.81, p.669-674, 1981.

36.KAZAMA, S.; MASAKI, Y.; MARUYAMA, S.; ISHIHARA, A. Effect of Altering Cerebrospinal fluid pressure on spinal cord blood flow. **Ann. Thorac. Surg.**, v.58, p.112-5, 1994.

37.KIEFFER, E.; RICHARD, T.; CHIRAS, J.; GODET, G.; CORMIER, E. Preoperative spinal cord artriography in aneurysmal disease of the descending thoracic and thoracoabdominal aorta: Preliminary results in 45 patients. **Ann. Vasc. Surg.**, v.3, p.34-46, 1989.

38.KINOUCI, H.; SHARP, F.R.; HILL, M.P.; KOISTINAHO, J.; SAGAR, S.M.; CHAN, P.H. Induction of 70 – kDa heat shock protein and hsp70 mRNA following transient focal cerebral ischemia in the rat. **J. Cereb. Blood Flow Metab.**, v.13, p.105-15, 1993.

39.KIRINO, T. Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia. **Brain. Res.**, v.239, p.57- 69, 1982.

40. KIRINO, T.; SANO, K. Selective vulnerability in the gerbil hippocampus following transient ischaemia. **Acta. Neuropathol.** v.62, p.201-8, 1984.
41. KOUCHOUKOS, N.T.; DAILY, B.B.; ROKKAS, C.K.; MURPHY, S.F.; BAUER, S.; ABOUD, N. Hypothermic bypass and circulatory arrest for operations on the descending thoracic and thoracoabdominal aorta. **Ann. Thorac. Surg.**, v.60, p.67-77, 1995.
42. KUNIHARA, T.; SASAKI, S.; SHIYA, N.; MIYATAKE, T.; MAFUNE, N.; YASUDA K. Proinflammatory cytokines in cerebrospinal fluid in repair of thoracoabdominal aorta. **Ann. Thorac. Surg.** v.71, p.801-6, 2001.
43. KUZUYA, T.; HOSHIDA, S.; YAMASHITA, N.; FUJI, H.; OE, H.; HORI, M.; KAMADA, T.; TADA, M. Delayed effects of sublethal ischemia on the acquisition of tolerance to ischemia. **Circ. Res.** v,72, p.1293-9, 1993.
44. LASCHINGER, J.C.; CUNNINGHAM JR, J.N.; COOPER, M.M.; BAUMANN, F.G.; SPENCER, F.C. Monitoring of somatosensory evoked potentials during surgical procedures on the thoracoabdominal aorta. I. Relationship of aortic cross-clamp duration, changes in somatosensory evoked potentials, and incidence of neurologic dysfunction. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v.94, p.260-5, 1987.

45. LEPORE, V.; LONN, L.; DELLE, M.; BUGGE, M.; JEPPSSON, A.; KJELLMAN, U.; RADBERG, G.; RISBERG, B. Endograft therapy for diseases of the descending thoracic aorta: results in 43 high-risk patients. **J. Endovasc. Ther.**, v.9, p.829-37, 2002.
46. LI, Y.; WHITTAKER, P.; KLONER, R.A. The transient nature of the effect of ischemic preconditioning on myocardial infarct size and ventricular arrhythmia. **Am. Heart. J.**, v.123, p.346-53, 1992.
47. LIPS, J.; DE HAAN, P.; BOUMA, G.J.; JACOBS, M.J.; KALKMAN, C.J. Delayed detection of motor pathway dysfunction after selective reduction of thoracic spinal cord blood flow in pigs. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v.123, p. 531-8, 2002.
48. LUKACOVA, N. The relevance of ischemic preconditioning and tolerance in the neuroprotectivity of ischemia-induced neuronal damage: an up-to-date review. **Biologia**, v.54, p.29-34, 1999.
49. MARBER, M.S.; LATCHMAN, D.S.; WALKER, J.M.; YELLON, D.M. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. **Circulation**, v.88, p.1264-72, 1993.

50. MARSALA, M.; VANICKY, I.; GALIK, J.; RADONAK, J.; KUNDRAT, I.; MARSALA, J. Panmyelic epidural cooling protects against ischemic spinal cord damage. **J. Surg. Res.**, v.55, p.21-31,1993.
51. MATSUMOTO, M.; OHTAKE, K.; WAKAMATSU, H.; OKA, S.; KIYOSHIMA, T.; NAKAKIMURA, K.; SAKABE, T. The time course of acquisition of ischemic tolerance and induction of heat shock protein 70 after a brief period of ischemia in the spinal cord in rabbits. **Anesth. Analg.**, v.92, p.418-23, 2001.
52. MATSUYAMA, K.Y.; IHAYA, A.; KIMURA, T.; TANIGAWA, N.; MURAOKA, R. Effect of spinal cord preconditioning on paraplegia during cross-clamping of the thoracic aorta. **Ann. Thorac. Surg.**, v. 63, p.1315-20, 1997.
53. MCCULLOUGH, J.L.; HOLLIER, L.H.; NUGENT, M. Paraplegia after thoracic aortic occlusion: Influence of cerebrospinal fluid drainage; experimental and early clinical results. **J. Vasc. Surg.**, v.7, p.153-160, 1988.
54. MIYAIRI, T.; KOTSUKA, Y.; EZURE, M.; ONO, M.; MOROTA, T.; KUBOTA, H.; SHIBATA, K.; UENO, K. Open stent-grafting for aortic arch aneurysm is associated with increased risk of paraplegia. Takamoto S. **Ann. Thorac. Surg.**, v.74, p.83-9, 2002.

55. MIYAMOTO, K.; UENO, A.; WADA, T. A new and simple method of preventing spinal cord damage following temporary occlusion of the thoracic aorta by draining the cerebrospinal fluid. **J. Cardiovascular Surg.**, v.1, p.188-197, 1960.
56. MOORE, W.M.; HOLLIER, L.H. The influence of severity of spinal cord ischemia in the etiology of delayed-onset paraplegia. **Ann. Surg.**, v.213, p.427-32, 1991.
57. MUNYAO, N.; KASTE, M.; LINDSBERG, P.J. Tolerization against loss of neuronal function after ischemia-reperfusion injury. **Neuroreport**, v.9, p.321-5, 1998.
58. MURRY, C.E.; JENNINGS, R.B.; REIMER, K.A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. **Circulation**, v.74, p.1124-36, 1986.
59. MURRY, C.E.; RICHARD, V.J.; JENNINGS, R.B.; REIMER, K.A. Myocardial protection is lost before contractile function recovers from ischemic preconditioning. **Am. J. Physiol.**, v.260, p.H796-H804, 1991.
60. NAOYA, Y.; HARUO, T.; HIDEKI, K.; YOSHIHARU, K.; HARUO, T.; YASUHIRO, U. Monitoring for spinal cord ischemia by use of evoked

spinal cord potential during aortic aneurysm surgery. **J. Vasc. Surg.**, v.57, p.157, 1994.

61. NYLANDER, WA; PLUNKETT, RJ, HAMMON, J.W.; OLDFIELD, E.H.; MEACHAM, W.F. Thiopental modification of ischemic spinal cord injury in the dog. **Ann. Thorac. Surg.**, v.33, p 64-68, 1982.

62. OHTSUBO, O.; ITOH, T.; OKAZAKI, Y.; MATSUMOTO, K.; KATO, A. Selective perfusion of preoperatively identified artery of Adamkiewicz during repair of thoracoabdominal aortic aneurysm. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v.127, p.272-4, 2004.

63. OLDFIELD, E.H.; PLUNKETT, R.J.; NYLANDER JR, W.A.; MEACHAM, W.F. Barbiturate protection in acute experimental spinal cord ischemic. **J. Neurosurg.**, v.56, p.511-6, 1982.

64. OSTERHOLM, J.L.; MATHEWS, G.L. Altered norepinephrine metabolism following experimental spinal cord injury Part I. Relationship to hemorrhagic necrosis and post-wounding neurological deficits. **J. Neurosurg.**, v.36, p.8, 1972.

65. PERDRIZET, G.A.; LENA, C.J.; SHAPIRO, D.S.; REWINSKI, M.J. Preoperative stress conditioning prevents paralysis after experimental aortic surgery: increased heat shock protein content is associated with

- ischemic tolerance of the spinal cord. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v.124, p.162-70, 2002.
66. PÉREZ-PINZÓN, M.A.; XU, G.P.; DIETRICH, W.D.; ROSENTHAL, M.; SICK, T.J. Rapid preconditioning protects rats against ischemic neuronal damage after 3 but not 7 days of reperfusion following global cerebral ischemic. **J. Cereb. Blood Flow Metab.**, v.17, p.175-82, 1997.
67. PULSINELLI, W.A.; BRIERLEY, J.B.; PLUM, F. Temporal profile of neuronal damage in a model of transient forebrain ischemia. **Ann. Neurol.**, v.11, p.491-8, 1982.
68. QAYUMI, A.K.; JANUSZ, M.T.; JAMIESON, W.R.; LYSTER, D.M. Pharmacologic interventions for prevention of spinal cord injury caused by aortic crossclamping. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v.104, p.256-61, 1992.
69. RAHIMTOOLA, S.H. The hibernating myocardium. **Am. Heart. J.**, v.117, p. 211-21, 1989.
70. ROBERTAZZI, R.R.; ACINAPURA, A.J. The efficacy of left atrial to femoral artery bypass in the prevention of spinal cord ischemia during aortic surgery. **Semin. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v.10:, p.67-71, 1998.

71. ROBERTAZZI, R.R.; CUNNINGHAM JR, J. N. Monitoring of somatosensory evoked potentials: A primer on the intraoperative detection of spinal cord ischemia during aortic reconstructive surgery. **Semin. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v.10, p.11-7, 1998.
72. SADER, A.A.; CHIMELLI, L.M.C.; SADER, S.L.; BARBIERI NETO, J.; COUTINHO NETO, J.; ROSELINO, J.E.S. Pré-condicionamento precoce da medula espinal isquêmica pesquisa em coelhos. **Rev. Bras. Cir. Cardiovasc.**, v.13, p.146-51, 1998.
73. SAFI, H.J.; MILLER C.C.^{3RD}.; HUYNH T.T., ESTRERA, AL., PORAT, E.E., WINNERKVIST, A.N., ALLEN, B.S., HASSOUN. H.T., MOORE, F.A. Distal aortic perfusion and cerebrospinal fluid drainage for thoracoabdominal and descending thoracic aortic repair: ten years of organ protection. **Ann. Surg.**, v.238, p.372-81. 2003.
74. SAKURAI, M.; AOKI, M.; ABE, K.; SADAHIRO, M.; TABAYASHI, K. Selective motor neuron death and heat shock protein induction after spinal cord ischemia in rabbits. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v.113, p.159- 64, 1997.
75. SAKURAI, M.; HAYASHI, T.; ABE, K.; AOKI. M.; SADAHIRO, M.; TABAYASHI, K. Enhancement of heat shock protein expression after

transient ischemia in the preconditioned spinal cord of rabbits. **J. Vasc. Surg.**, v.27, p.720-5, 1998.

76.SALZANO JR, R.P.; ELLISON, L.H.; ALTONJI, P.F.; RICHTER, J.; DECKERS, P.J. Regional deep hypothermia of the spinal cord protects against ischemic injury during thoracic aortic cross-clamping. **Ann. Thorac. Surg.**, v.57, p.65-70, 1994.

77.SCHARRER-PAMLER, R.; KOTSIS, T.; KAPFER, X.; GORICH, J.; OREND, K.H.; SUNDER-PLASSMANN, L. Complications after endovascular treatment of thoracic aortic aneurysms. **J. Endovasc. Ther.**, v.10, p. 711-8, 2003.

78.SCHMIDT, C.A.; JACOBSON, J.G. Thoracic aortic injury. A ten-year experience. **Arch. Surg.**, v. 19, p.1244-6, 1984.

79.SHEN, N.; WANG, S. Monitoring spinal-cord injury intraoperatively and attempting prognosis by cortical somatosensory evoked potentials: experimental study. **J. Reconstr. Microsurg.**, v.14, p.61-6, 1998.

80.SIRIN, B.H.; ORTAC, R.; CERRAHOGLU, M.; SARIBULBUL, O., BALTALARLI, A.; CELEBISOY, N.; ISKESEN, I.; RENDECI, O. Ischaemic preconditioning reduces spinal cord injury in transient ischaemia. **Acta. Cardiol.**, v.57, p.279-85, 2002.

81. STEENBERGEN, C.; PERLMAN, M.; LONDON, R.E.; MURPHY, E.
Mechanism of preconditioning. Ionic alterations. **Circulation Reserch**,
v.72, p.112-25, 1993.
82. SUEDA, T.; ORIHASHI, K.; OKADA, K.; SUGAWARA, Y.; IMAI, K.;
KOCHI, K. Fate of aneurysms of the distal arch and proximal descending
thoracic aorta after transaortic endovascular Stent-Grafting. **Ann. Thorac.**
Surg., v. 76, p. 84-9, 2003.
83. SVENSSON, L.G.; CRAWFORD, E.S.; HESS, K.R.; COSELLI, J.S.;
RASKIN, S.; SHENAQ, S.A.; SAFI, H.J. Deep hypothermia with
circulatory arrest: Determinants of stroke and early mortality in 656
patients. **J. Thorac. Cardiovascular. Surg.**, v.106, p.19-31, 1993.
84. SVENSSON, L.G.; PATEL, V.; ROBINSON, M.F.; UEDA, T.; ROEHM JR,
J.O.; CRAWFORD, E.S. Influence of preservation or perfusion on
intraoperatively identified spinal cord blood supply on spinal motor evoked
potentials and paraplegia after aortic surgery. **J. Vasc. Surg.**, v.13,
p.355-65, 1991.
85. SVENSSON, L.G.; RICKARDS, E.; COULL, A.; ROGERS, Q.; FINIMEL,
C.J.; HINDER, R.A. Relationship of spinal cord blood flow to vascular

anatomy during thoracic aortic cross-clamping and shunting. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v.91, p.71-8, 1986.

86. TARLOV, I.M. Spinal Cord compression: mechanism of paralysis and treatment. Springfield, Illinois, Charles. C.T. 1957. p. 147.

87. TATOR, C.H.; FEHLINGS, M.G. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. **J. Neurosurgery**, v.75, p.15-26, 1991.

88. TOMAI, F.; CREA, F.; GASPARDONE, A.; VERSACI, F.; DE PAULIS, R.; POLISCA, P.; CHIARIELLO, L.; GIOFFRE, P.A. Effect of A1 adenosine receptor blockade by bamiphylline on ischaemic preconditioning during coronary angioplasty. **Eur. Heart. J.**, v.17, p.846-53, 1996.

89. TOUMPOULIS, I.K.; ANAGNOSTOPOULOS, C.E.; DROSSOS, G.E.; MALAMOU-MITSI, V.D.; PAPA, L.S.; KATRITSIS, D.G. Early ischemic preconditioning without hypotension prevents spinal cord injury caused by descending thoracic aortic occlusion. **J. Thorac. Cardiovasc. Surg.**, v.125, p. 1030-1036, 2003.

90. TOUMPOULIS, I.K.; ANAGNOSTOPOULOS, C.E.; DROSSOS, G.E.; MALAMOU-MITSI, V.D.; PAPPAS, L.S.; KATRITSIS, D.G. Does ischemic

preconditioning reduce spinal cord injury because of descending thoracic aortic occlusion? **J. Vasc. Surg.**, v.37, p. 426-32, 2003.

91. UENO, T., CHAO, Z.L.; OKAZAKI, Y.; ITOH, T. The impact of ischaemic preconditioning on spinal cord blood flow and paraplegia. **Cardiovasc. Surg.**, v.9, p.575-9, 2001.

92. USUI, A.; FUJIMOTO, K.; ISHIGUCHI, T.; YOSHIKAWA, M.; AKITA, T.; UEDA, Y. Cerebrospinal dysfunction after endovascular stent-grafting via a median sternotomy: the frozen elephant trunk procedure. **Ann. Thorac. Surg.**, v.74, p. S1821-4, 2002.

93. VAN WINKLE, D.R.; CHIEN, G.L.; WOLFE, R.A.; SOIFER, B.E.; KUZUME, K.; DAVIS, R.F. Cardioprotection provide by adenosine receptor activation is abolished by blockade of the Katp channel. **Am. J. Physiol.**, v.264. p.H829-39, 1994.

94. VAN WINKLE, D.R.; THORNTON, J.D.; DOWNEY, D.M.; DOWNEY, J.M. The natural history of preconditioning: cardioprotection depends on duration of transient ischemia and time to subsequent ischemia. **Coronary Artery Dis.**, v.2, p.613-9, 1991.

95. VANICKY, I.; MARSALA, M.; GALIK, J.; MARSALA, J. Epidural perfusion cooling protection against protracted spinal cord ischemia in rabbits. **J. Neurosurg.**, v.79, p.736-41, 1993.
96. YAMAMOTO, N.; TAKANO, H.; KITAGAWA, H.; KAWAGUCHI, Y.; TSUJI, H.; UOZAKI, Y. Monitoring for spinal cord ischemia by use of the evoked spinal cord potentials during aortic aneurysm surgery. **J. Vasc. Surg.**, v.20, p.826-33, 1994.
97. YAO, Z.; GROSS, G.J. A comparison of adenosine – induced cardioprotection and ischemic preconditioning in dogs. Efficacy, time course and role of Katp channels. **Circulation**, v.89, p.1229-36, 1994.
98. YELLON, D.M.; AKHULAIFI, A.M.; PUGSLEY, W.B. Preconditioning the human myocardium. **Lancet**, v.342, p.276-7, 1993.
99. ZHANG, P.; ABRAHAM, S.; KRAFT, K.R.; RABCHEVSKY, A.G.; SCHEFF, S.W.; SWAIN, J.A. Hyperthermic preconditioning protects against spinal cord ischemic injury. **Ann. Thorac. Surg.**, v.70, p. 1490-5, 2000.

100. ZVARA, D.A.; COLONNA, D.M.; DEAL, D.D.; VERNON, J.C.; GOWDA, M.; LUNDELL, J.C. Ischemic preconditioning reduces neurologic injury in a rat model of spinal cord ischemia. **Ann. Thorac. Surg.**, v.68, p.874-80, 1990.