

Calcium en cardioplegie

T. J. C. RUIGROK en F. L. MEIJLER*

Samenvatting

Doorstroming van het coronairsysteem met een calciumvrije oplossing, gevolgd door reperfusie met een calciumhoudende oplossing, kan tot acute celdood en definitief verlies van de elektrische en mechanische activiteit van het hart leiden. Dit verschijnsel staat bekend als de calciumparadox. Een aantal in de hartchirurgie gebruikte cardioplegische oplossingen, zoals de Bretschneideroplossing, bevatten geen calciumionen. Met dierexperimenten is aangetoond dat gebruik van de Bretschneideroplossing onder bepaalde omstandigheden aanleiding kan geven tot de

calciumparadox. In de klinische situatie kunnen calciumvrije cardioplegische oplossingen als regel niettemin zonder gevaar worden gebruikt en leidt reperfusie van het hart met calciumhoudend bloed niet tot de calciumparadox. Dit is een gevolg van het feit dat tijdens toediening van de cardioplegische oplossing de temperatuur laag en zowel de perfusiesnelheid als de perfusieduur beperkt gehouden worden. Omdat de calciumparadoxbeschadiging zeer ernstig is, zou het desalniettemin de voorkeur verdienen het hart nimmer aan calciumvrije oplossingen bloot te stellen.

Summary

Coronary perfusion with a calcium-free solution, followed by reperfusion with a calcium containing solution, may result in acute myocardial cell death and in irreversible loss of the electrical and mechanical activity of the heart. This phenomenon is known as the calcium paradox. A number of cardioplegic solutions that have been developed for clinical practice, are free of calcium (e.g. the Bretschneider solution). Animal experiments have demonstrated that under certain circumstances coronary perfusion with the

Calcium and cardioplegia

Bretschneider solution can predispose the heart to the calcium paradox. During cardiac surgery, however, calcium-free cardioplegic solutions can be used without risk of inducing the calcium paradox during reperfusion of the heart with calcium-containing blood, provided that temperature during cardioplegia is low, and flow and duration of infusion are limited. It is recommended, nevertheless, to avoid the use of calcium-free cardioplegic solutions in clinical practice.

Hart Bulletin 1985; 16:21-25

Inleiding

Cardioplegische oplossingen worden in de hartchirurgie gebruikt om tijdens extracorporale circulatie 1) snel een stilstand in diastole te verkrijgen, 2) het hart af te koelen en 3) bescherming te bieden tegen de nadelige gevolgen van ischemie. De uitgebreide literatuur over dit onderwerp toont aan dat voor het samenstellen van een cardioplegische oplossing een nagenoeg onbeperkt aantal ingrediënten voorhanden is. Zo kan, op grond van een groot aantal experimentele en klinische onderzoeken, een keus gemaakt worden uit:

- 1) ionen (positief: calcium-, natrium-, kalium- en magnesiumionen; negatief: chloride-, fosfaat-, bicarbonaat-, acetaat- en citraationen);
- 2) lokaalanesthetica (procaïne en lidocaïne);
- 3) calciumantagonisten (verapamil, nifedipine en diltiazem);
- 4) bèta-blokkers (propranolol);
- 5) substraten en hormonen (glucose, insuline, pyruvaat, glutamaat en aspartaat);
- 6) buffers (histidine en Tris);
- 7) osmotisch en oncotisch actieve verbindingen (mannitol, sorbitol, albumine en dextranen);

- 8) erythrocyten;
- 9) energierijke fosfaten (creatinefosfaat en adenosinetriphosfaat);
- 10) glucocorticoiden (methylprednisolon);
- 11) overige verbindingen (chlorpromazine, glutathion, coënzym Q₁₀ en carnitine).¹

Dit artikel beperkt zich tot één van de hierboven genoemde bestanddelen, het calciumion, en gaat vooral over de afwezigheid hiervan in een aantal cardioplegische oplossingen.

Ringer

Het onderwerp „calcium en cardioplegie” vindt zijn oorsprong in het werk van Ringer die, deels bij toeval, het verband tussen calcium en de contractiliteit van de hartspier ontdekte: „I first took a trace with blood mixture and then replaced the blood by saline solution. The contractions rapidly grew weak and almost stopped. They then improved somewhat. In eight minutes after the substitution of saline solution I added to 100 c.c. saline 3.5 c.c. of calcium chloride solution. This rapidly increased the strength of the beats”.² In hetzelfde artikel voorzag Ringer ook al het gebruik van

* Afdeling Cardiologie, Academisch Ziekenhuis Utrecht.

kalium om het hart stil te leggen. Ringer voerde zijn experimenten bij kamertemperatuur uit en maakte gebruik van geïsoleerde kikkerharten.

Calciumparadox

Soortgelijke experimenten werden door Zimmerman en Hülsmann uitgevoerd, echter met geïsoleerde ratteharten bij 37° C.³ Bij perfusie met een calciumvrije oplossing ontstond een elektromechanische dissociatie, die door Mines⁴ reeds eerder was beschreven. Wanneer na enkele minuten het hart opnieuw met een calciumhoudende oplossing werd doorstroomd, leidde dit niet tot herstel van de contracties maar tot definitief verlies van de elektrische en mechanische activiteit van het hart en tot acute celdood (fig. 1). Tegelijkertijd kwamen grote hoeveelheden intracellulaire bestanddelen vrij, zoals myoglobine, enzymen en kalium- en magnesiumionen. Dit verschijnsel noemden zij de calciumparadox.

Dat Ringer de calciumparadox niet waarnam, kan verklaard worden uit het feit dat hij zijn experimenten bij kamertemperatuur uitvoerde en gebruik maakte van kikkerharten. Hypothermie is namelijk een zeer effectieve manier om de beschadiging door de calciumparadox te verminderen.⁵ Verder is het kikkerhart

minder gevoelig voor de calciumparadox dan het zoogdierhart.⁶

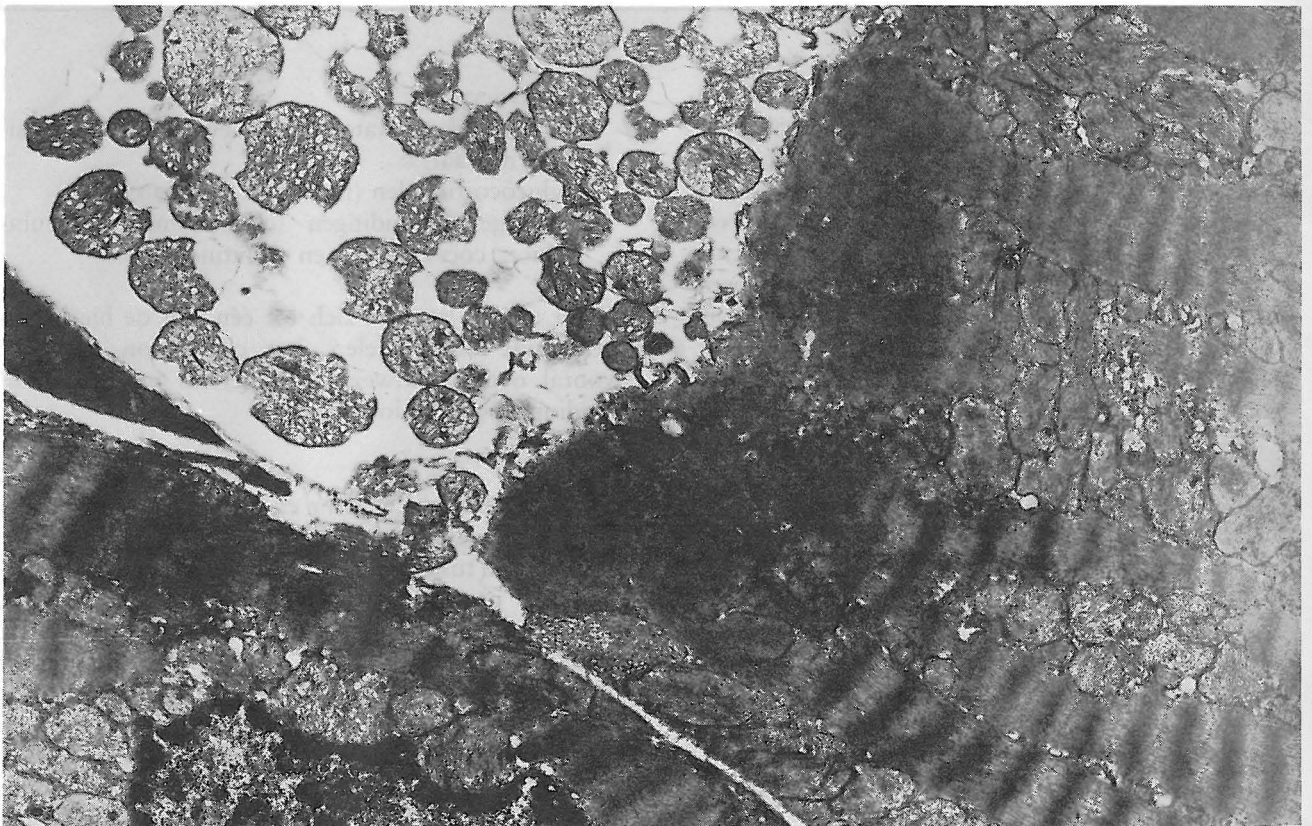
De calciumparadox treedt niet alleen op tijdens experimenten in vitro met harten van kleine zoogdieren, maar is ook aangetoond in het hondehart na extracorporale circulatie.⁷ Verder kan ook menselijk hartspierweefsel onherstelbaar beschadigd raken bij blootstelling aan achtereenvolgens een calciumvrije en een calciumhoudende oplossing.⁸ De calciumparadox wordt beschouwd als de meest acute en ernstige hartspierbeschadiging die experimenteel kan worden teweeggebracht. Hoewel het precieze mechanisme van de calciumparadox nog niet is opgehelderd, is wel duidelijk dat tijdens de calciumvrije periode het sarcolemma zodanig verandert dat bij herstel van de extracellulaire calciumconcentratie calciumionen ongehinderd de cellen kunnen binnenstromen. Uit (elektronen-)microscopisch oogpunt gezien is de calciumparadox niet te onderscheiden van de beschadiging die op kan treden wanneer ischemisch hartspierweefsel wordt geperfundeed.

Cardioplegische oplossingen

Eerste generatie

Geïnspireerd door Ringers onderzoek naar de werking van kationen op de contractiliteit van het hart, ontwikkelden Melrose et al. in het midden van de jaren vijftig een oplossing die bestond uit 2,5% kaliumcitraat, waarmee op reversibele wijze een stilstand in

Fig. 1. Rat heart perfused for 4 minutes with a calcium-free solution, followed by 30 minutes of reperfusion with a calcium containing solution (37° C). Myofibrils are heavily contracted; mitochondria are swollen and contain electron-dense deposits. $\times 7500$.



diastole kon worden bereikt.⁹ Onafhankelijk van hen stelden Lam et al. in hetzelfde jaar het gebruik van een kaliumchloride-oplossing voor.¹⁰ Nadat Baker et al.¹¹ een aantal experimentele en theoretische argumenten hadden geleverd ten gunste van het gebruik van citraat, werd aan het eind van de jaren vijftig in de meeste hartchirurgische centra kaliumcitraat als cardioplegische oplossing gebruikt.

Reeds enkele jaren later verschenen er berichten over weefselnecrose na het gebruik van kaliumcitraat-cardioplegie. Het was vooral het onderzoek van McFarland dat er in het begin van de jaren zestig toe leidde dat de Melrose-oplossing klinisch in onbruik raakte.¹² De schadelijke werking van deze oplossing is dikwijls toegeschreven aan de hoge kaliumconcentratie. Het is evenwel niet uitgesloten dat de concentratie van vrije calciumionen door de chelerende werking van citraat zodanig verlaagd werd, dat het optreden van de calciumparadox tijdens reperfusie met (calciumhoudend) bloed verantwoordelijk was voor de waargenomen necrose.

Tweede generatie

De jaren zestig lieten, dank zij drie Duitse groepen, een geleidelijke opleving van de cardioplegie zien. De cardiologische oplossingen die in deze periode ontwikkeld zijn, worden wel „intracellulaire” oplossingen genoemd omdat calcium steeds ontbreekt en natrium in zeer lage concentratie aanwezig is of eveneens geheel ontbreekt.

Op grond van uitgebreid experimenteel onderzoek kwam Hölscher tot de conclusie dat niet zozeer het kalium als wel het citraat verantwoordelijk was voor de, na gebruik van kaliumcitraatcardioplegie waargenomen, weefselnecrose.¹³ Het vermogen van citraat om met calcium en magnesium chelaten te vormen zou hierbij een belangrijke rol spelen. Hölscher concentreerde zich vooral op het magnesium en veronderstelde dat, als gevolg van chelaatvorming, magnesiumgeactiveerde membraan ATPases werden geremd en de doorlaatbaarheid van het sarcolemma ontregeld werd. Dit zou vervolgens leiden tot weefseloedeem en celbeschadiging. Hölscher stelde uiteindelijk een cardio-

plegische oplossing samen uit magnesiumchloride (212 mmol/liter) en procaine-amide (7,4 mmol/liter), die echter uitsluitend in dierexperimenten gebruikt werd.

Geïnspireerd door het werk van Hölscher ontwikkelden Kirsch et al. een cardioplegische oplossing voor klinisch gebruik.¹⁴ De Kirsch-oplossing bevatte magnesiumaspartaat (161 mmol/liter), procaine HCl (11 mmol/liter) en sorbitol (247 mmol/liter). Jynge et al. kwamen echter op grond van dierexperimentele gegevens tot de conclusie dat de Kirsch-oplossing het hart geen bescherming bood tegen de gevolgen van ischemie en onder bepaalde omstandigheden zelfs schadelijke gevolgen kon hebben.^{15,16} Zij versterkten de al eerder gewekte indruk dat de beschermende werking van de Kirsch-oplossing niet berustte op de samenstelling, maar voornamelijk op het effect van de lage temperatuur waarbij deze oplossing werd toegediend.

Gedurende de afgelopen twintig jaar heeft de groep van Bretschneider uitgebreid onderzoek verricht naar overleving en herstel van de hartspier bij diverse graden van zuurstofgebrek.^{17,18} Een aantal cardioplegische oplossingen zijn hiervan het resultaat geweest, die alle gemeen hebben dat ze natriumarm en vrij van calcium zijn. De achterliggende gedachtengang hierbij was dat een stilstand in diastole uit energetisch oogpunt gezien beter bewerkstelligd kan worden door verlaging van de extracellulaire natriumconcentratie dan door verhoging van de kaliumconcentratie. Bovendien wordt extra energie gespaard door de negatief inotrope werking ten gevolge van het weglaten van calcium. Dat de Bretschneider-oplossingen buiten Duitsland niet op grote schaal worden gebruikt, heeft een aantal oorzaken. Een belangrijke factor is ongetwijfeld de vrees dat het gebruik van deze calciumvrije oplossingen de calciumparadox induceert.^{15,19} Verder heeft een rol gespeeld dat Bretschneider, zeker in de beginjaren, zijn resultaten voornamelijk in duitstalige tijdschriften publiceerde. Tabel 1 laat de samenstelling van een van de laatste Bretschneider-oplossingen zien die evenals de eerder ontwikkelde geen calcium bevat.¹⁷ Dit is vooral opmerkelijk omdat een aantal groepen, waaronder die van Bretschneider zelf, heeft aangetoond dat onder bepaalde omstandigheden het gebruik van deze oplossing aanleiding kan geven tot het optreden van de calciumparadox.¹⁸

Derde generatie

De St. Thomas'-oplossingen, in de jaren zeventig door Hearse et al. ontwikkeld, zijn de bekendste en best onderzochte cardioplegische oplossingen van de derde generatie.¹ De opzet was om bij het samenstellen van deze oplossingen zo weinig mogelijk af te wijken van de normale extracellulaire ionenconcentraties. In deze „extracellulaire” oplossingen waren dan ook doorgaans calciumionen aanwezig. Tabel 2 toont de samenstelling van de St. Thomas'-oplossing uit 1981.

Table 1

Composition of Bretschneider's histidine-buffered cardioplegic solution

component	concentration (mmol/liter)
sodium chloride	15
potassium chloride	8
magnesium chloride	8
histidine	180
histidine hydrochloride	15
tryptophan	2
mannitol	20

Table 2

Composition of the St. Thomas' cardioplegic solution number 2

component	concentration (mmol/liter)
sodium chloride	110
potassium chloride	16
magnesium chloride	16
calcium chloride	1.2
sodium bicarbonate	10
lidocaine (optional extra)	1

De Bretschneider-oplossing en de calciumparadox

Opzet

Door ratteharten met de Bretschneideroplossing (tabel 1) te doorstromen hebben wij onderzocht of deze calciumvrije oplossing de calciumparadox kan teweegbrengen.²⁰ Hierbij werd gelet op de invloed van de temperatuur van de cardioplegische oplossing, de duur van de perfusie en de snelheid waarmee de oplossing het coronairsysteem passeerde. Bovendien werd onderzocht welke invloed toevoeging van een kleine hoeveelheid calciumchloride ($50 \mu\text{mol/liter}$)²¹ aan de Bretschneideroplossing op de resultaten had.

Methode

Geïsoleerde ratteharten werden volgens de Langendorffmethode doorstroomd met de Bretschneideroplossing (zie tabel 3 voor gegevens over temperatuur, perfusieduur, perfusiesnelheid en eventuele toevoeging van calciumchloride). Vervolgens werden de harten gedurende vijftien minuten bij 37°C doorstroomd met een calciumhoudend standaardperfusaat. Hierin werd de activiteit van het uit het hart vrijgekomen enzym creatinekinase (CK) bepaald.

De calciumparadoxbeschadiging die optrad als gevolg van reperfusie met calciumhoudende vloeistof, werd uitgedrukt in het aantal internationale eenheden (E) creatinekinase dat tijdens vijftien minuten reperfusie per gram gedroogd hartweefsel vrijkwam (E/15 min per gram).

Table 3

Relationship between exposure of rat hearts to Bretschneider's cardioplegic solution and CK release during the period of calcium repletion

perfusion with cardioplegic solution	CK release (IU/15 min per g dry heart tissue) during reperfusion
at a constant pressure of 75 mm Hg (flow: 6 ml/min per g wet heart tissue),	
at 37°C for 20 min	2120 ± 210
at 20°C for 20 min	45 ± 5
at 20°C for 120 min	595 ± 90
at 20°C for 120 min in the presence of $50 \mu\text{mol/liter Ca}^{++}$	65 ± 10
at a constant flow of 0.75 ml/min per g wet heart tissue,	
at 20°C for 120 min	110 ± 20

All hearts were reperfused with calcium containing solution at a constant pressure (75 mm Hg) at 37°C for 15 minutes. Results are expressed as mean \pm SEM (n=6).

Resultaten

Perfusie met de Bretschneideroplossing gedurende twintig minuten bij 37°C leidde tot een volledige calciumparadox bij reperfusie met calciumhoudende vloeistof: een CK-verlies van 2120 ± 210 E/15 min per gram (tabel 3). De omvang van de calciumparadoxbeschadiging wordt duidelijk wanneer wij deze vergelijken met de reperfusiebeschadiging na bijvoorbeeld negentig minuten totale ischemie bij 37°C : 165 ± 30 E/15 min per gram.

Door de temperatuur tijdens perfusie met de cardioplegische oplossing te verlagen naar 20°C kon het CK-verlies tijdens reperfusie worden teruggebracht van 2120 ± 210 tot 45 ± 5 E/15 min per gram. Wanneer bij deze temperatuur het hart gedurende 120 minuten in plaats van 20 minuten met de cardioplegische oplossing werd doorstroomd nam het CK-verlies tijdens reperfusie toe van 45 ± 5 tot 595 ± 90 E/15 min per gram. Dit enzymverlies kon op twee manieren worden teruggedrongen: 1) door toevoeging van $50 \mu\text{mol/liter}$ calciumchloride aan de cardioplegische oplossing en 2) door de perfusiesnelheid te verlagen van 6 tot $0,75$ ml/min per gram hartweefsel (tabel 3).

Bespreking

De resultaten laten zien dat perfusie van het geïsoleerde rattehart met de Bretschneideroplossing bij 37°C , gevolgd door reperfusie met een calciumhoudende oplossing, tot een volledige calciumparadox leidt. Dit ondanks de lage natriumconcentratie (15 mmol/liter), de hoge magnesiumconcentratie (8 mmol/liter) en de relatief lage pH (6,9), welke factoren het gevaar van de afwezigheid van calcium verkleinen.⁷ Ook bij 20°C kan een langdurige perfusie met de Bretschneideroplossing aanleiding geven tot aanzienlijk CK-verlies tijdens reperfusie. Uit deze resultaten en uit het feit dat de calciumparadox ook in menselijk hartspierweefsel is aangetoond⁸ alsmede na extracorporale circulatie,⁷ moet worden geconcludeerd dat bij klinisch gebruik van de Bretschneideroplossing het optreden van de

calciumparadox niet bij voorbaat mag worden uitgesloten.

Voor klinisch gebruik van de Bretschneideroplossing wordt evenwel een coronaire doorstroming van 0,6 tot 0,8 ml/min per gram hartweefsel gedurende acht tot tien minuten aanbevolen.¹⁸ Het zal, gezien de resultaten in tabel 3, duidelijk zijn dat bij naleving van dit protocol hartspierbeschadiging van het type dat optreedt bij de calciumparadox achterwege zal blijven. Bovendien zal in de klinische situatie de cardioplegische oplossing geleidelijk gemengd worden met bloed als gevolg van de aanwezigheid van collateralen die het hart van buitenaf binnendringen. Deze collaterale bloedvoorziening verschilt echter van patiënt tot patiënt en is bovendien afhankelijk van de systemische bloeddruk.^{22,23}

Conclusie

Samenvattend kan gesteld worden dat calciumvrije cardioplegische oplossingen slechts dan zonder gevaar kunnen worden gebruikt, wanneer de temperatuur voldoende laag en de perfusiesnelheid en de perfusiedruk beperkt gehouden worden. Gezien de ernst van de calciumparadoxbeschadiging zou het echter de voorkeur verdienen het hart nimmer aan calciumvrije oplossingen bloot te stellen. Wij zijn derhalve van mening dat alle cardioplegische oplossingen die bij patiënten worden toegepast een kleine hoeveelheid calcium moeten bevatten; bijvoorbeeld 50 $\mu\text{mol/liter}$, hetgeen overeenkomt met 6 mg calciumchloride per liter.^{20,21}

Wij danken dr. O. C. K. M. Penn voor het kritisch doorlezen van het manuscript.

Literatuur

1. Hearse DJ, Braimbridge MV, Jynge P. Protection of the ischemic myocardium: cardioplegia. New York: Raven Press, 1981.
2. Ringer S. A further contribution regarding the influence of the different constituents of the blood on the contraction of the heart. *J Physiol* 1883; 4:29-42.
3. Zimmerman ANE, Hülsmann WC. Paradoxical influence of calcium ions on the permeability of the cell membranes of the isolated rat heart. *Nature* 1966; 211:646-7.
4. Mines GR. On the functional analysis by the action of electrolytes. *J Physiol* 1913; 46:188-235.
5. Boink ABTJ, Ruigrok TJC, de Moes D, Maas AHJ, Zimmerman ANE. The effect of hypothermia on the occurrence of the calcium paradox. *Pflügers Arch* 1980; 385:105-9.
6. Ruigrok TJC, Slade AM, Poole-Wilson PA. The calcium para-

- dox in isolated frog heart: Ringer revisited. *Eur Heart J* 1983; 4 (Suppl H):89-96.
7. Ruigrok TJC. The calcium paradox: mechanisms and clinical relevance. In: Anghileri LJ, Tuffet-Anghileri AM, eds. The role of calcium in biological systems, Vol. III. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1982; 133-41.
8. Lomský M, Ekroth R, Poupa O. The calcium paradox and its protection by hypothermia in human myocardium. *Eur Heart J* 1983; 4 (Suppl H):139-42.
9. Melrose DG, Dreyer B, Bentall HH, Baker JBE. Elective cardiac arrest. *Lancet* 1955; ii:21-2
10. Lam CR, Geoghegan T, Lepore A. Induced cardiac arrest for intracardiac surgical procedures. *J Thorac Surg* 1955; 30:620-25.
11. Baker JBE, Bentall HH, Dreyer B, Melrose DG. Arrest of isolated heart with potassium citrate. *Lancet* 1957; ii:555-9.
12. McFarland JA, Thomas LB, Gilbert JW, Morrow AG. Myocardial necrosis following elective cardiac arrest induced with potassium citrate. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1960; 40:200-8.
13. Hölscher B. Studies by electron microscopy on the effects of magnesium chloride - procaine amide or potassium citrate on the myocardium in induced cardiac arrest. *J Cardiovasc Surg* 1967; 8:163-6.
14. Kirsch U, Rodewald G, Kalmár P. Induced ischemic arrest: clinical experience with cardioplegia in open-heart surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1972; 63:121-30.
15. Jynge P, Hearse DJ, Braimbridge MV. Myocardial protection during ischemic cardiac arrest: a possible hazard with calcium-free cardioplegic infusates. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1977; 73:848-55.
16. Jynge P, Hearse DJ, de Leiris J, Feuvray D, Braimbridge MV. Protection of the ischemic myocardium: ultrastructural, enzymatic, and functional assessment of the efficacy of various cardioplegic infusates. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1978; 76:2-15.
17. Preusse CJ, Gebhard MM, Bretschneider HJ. Myocardial „equilibration processes” and myocardial energy turnover during initiation of artificial arrest with cardioplegic solution. Reasons for a sufficiently long cardioplegic perfusion. *Thorac Cardiovasc Surg* 1981; 29:71-6.
18. Gebhard MM, Bretschneider HJ, Mezger VA, Preusse CJ, Spieckermann PG. Principles to avoid the Ca^{++} paradox in myocardial protection. In: Isselhard W, ed. Myocardial protection for cardiovascular surgery. Munich: Pharmazeutische Verlagsgesellschaft, 1981; 74-81.
19. Tyers GFO. Metabolic arrest of the ischemic heart. *Ann Thorac Surg* 1975; 20:91-4.
20. Ruigrok TJC, de Moes D, Borst C. Bretschneider's histidine-buffered cardioplegic solution and the calcium paradox. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983; 86:412-17.
21. Crevey BJ, Langer GA, Frank JS. Role of Ca^{2+} in maintenance of rabbit myocardial membrane structural and functional integrity. *J Mol Cell Cardiol* 1978; 10:1081-100.
22. Brazier J, Hottenrott C, Buckberg G. Noncoronary collateral myocardial blood flow. *Ann Thorac Surg* 1975; 19:426-35.
23. Hetzer R, Warnecke H, Wittrock H, Engel HJ, Borst HG. Extracoronary collateral myocardial blood flow during cardioplegic arrest. *Thorac Cardiovasc Surg* 1980; 28:191-6.