

# Avaliação da aprotinina na redução da resposta inflamatória sistêmica em crianças operadas com circulação extracorpórea

*Assessment of aprotinin in the reduction of inflammatory systemic response in children undergoing surgery with cardiopulmonary bypass*

Cesar Augusto FERREIRA<sup>1</sup>, Walter Villela de Andrade VICENTE<sup>2</sup>, Paulo Roberto Barbosa EVORA<sup>3</sup>, Alfredo José RODRIGUES<sup>4</sup>, Jyrson Guilherme KLAMT<sup>5</sup>, Ana Paula de Carvalho Panzeli CARLOTTI<sup>6</sup>, Fábio CARMONA<sup>7</sup>, Paulo Henrique MANSO<sup>8</sup>

RBCCV 44205-1154

## Resumo

**Objetivo:** Avaliar se a aprotinina em altas doses hemostáticas pode reduzir o processo inflamatório após circulação extracorpórea (CEC) em crianças.

**Métodos:** Estudo prospectivo randomizado em crianças de 30 dias a 4 anos de idade, submetidas à correção de cardiopatia congênita acianogênica, com CEC e divididas em dois grupos, um denominado Controle (n=9) e o outro, Aprotinina (n=10). Neste, o fármaco foi administrado antes e durante a CEC. A resposta inflamatória sistêmica e disfunções hemostática e multiorgânicas foram analisadas por marcadores clínicos e bioquímicos. Foram consideradas significantes as diferenças com  $P < 0,05$ .

**Resultados:** Os grupos foram semelhantes quanto às variáveis demográficas e intra-operatórias, exceto por maior hemodiluição no Grupo Aprotinina. Não houve benefício quanto aos tempos de ventilação pulmonar mecânica, permanência no CTIP e hospitalar, nem quanto ao uso de

inotrópicos e função renal. A relação  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  (pressão parcial de oxigênio arterial/fração inspirada de oxigênio) apresentou queda significativa com 24 h pós-operatório, no Grupo Controle. As perdas sanguíneas foram semelhantes nos dois grupos. No grupo Aprotinina surgiu leucopenia significativa, em CEC, seguida de leucocitose. Fator de necrose tumoral alfa (TNF  $\alpha$ ), Interleucinas (IL)-6, IL-8, IL-10, proporção IL-6/IL-10 não apresentaram diferenças marcantes intergrupos. A proporção IL-6/IL-10 PO aumentou no grupo Controle. Não houve complicações com o uso da aprotinina.

**Conclusão:** Nesta casuística, a Aprotinina em altas doses hemostáticas não minimizou as manifestações clínicas e os marcadores séricos de resposta inflamatória sistêmica.

**Descritores:** Procedimentos cirúrgicos cardiovasculares. Circulação extracorpórea com oxigenador de membrana. Síndrome de resposta inflamatória sistêmica. Síndrome de vazamento capilar. Aprotinina.

1. Doutor; Médico Assistente da Disciplina de Cirurgia Torácica e Cardiovascular do Departamento de Cirurgia e Anatomia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.
2. Professor Associado; Chefe da Disciplina de Cirurgia Torácica e Cardiovascular do Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.
3. Professor Titular da Disciplina de Cirurgia Torácica e Cardiovascular do Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.
4. Professor Doutor da Disciplina de Cirurgia Torácica e Cardiovascular do Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.
5. Professor Doutor do Serviço de Anestesiologia do Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.
6. Professora Doutora do Centro de Terapia Intensiva Pediátrica do Departamento de Pediatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

7. Doutor; Médico Assistente do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.
8. Mestre; Médico Assistente do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

Trabalho realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Endereço para correspondência:

César Augusto Ferreira  
Avenida dos Bandeirantes, 3900 – Campus Universitário – Ribeirão Preto, SP, Brasil – CEP: 14049-900.  
E-mail: cesarmonica@directnet.com.br

Artigo recebido em 6 de julho de 2009  
Artigo aprovado em 23 de setembro de 2009

### Abstract

**Objective:** To evaluate if the hemostatic high-dose aprotinin seems to reduce the inflammatory process after extracorporeal circulation (ECC) in children.

**Methods:** A prospective randomized study was conducted on children aged 30 days to 4 years submitted to correction of acyanogenic congenital heart disease with ECC and divided into two groups: Control (n=9) and Aprotinin (n=10). In the Aprotinin Group the drug was administered before and during ECC and the systemic inflammatory response and hemostatic and multiorgan dysfunctions were analyzed on the basis of clinical and biochemical markers. Differences were considered to be significant when  $P < 0.05$ .

**Results:** The groups were similar regarding demographic and intraoperative variables, except for a greater hemodilution in the Aprotinin Group. The drug had no benefit regarding time of mechanical pulmonary ventilation, permanence in the postoperative ICU and length of

hospitalization, or regarding the use of inotropic drugs and renal function. The partial arterial oxygen pressure/inspired oxygen fraction ratio ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ) was significantly reduced 24 h after surgery in the Control Group. Blood loss was similar for both groups. Significant leukopenia was observed in the Aprotinin Group during ECC, followed by leukocytosis. Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), interleukins (IL)-6, IL-8, IL-10, IL-6/IL-10 ratio did not differ significantly between groups. The postoperative IL-6/IL-10 fraction increased significantly in the Control Group. There were no complications with the use of aprotinin.

**Conclusion:** In this series, hemostatic high-dose aprotinin did not minimize the clinical manifestations or serum markers of the inflammatory systemic response.

**Descriptors:** Cardiovascular surgical procedures. Extracorporeal membrane oxygenation. Systemic inflammatory response syndrome. Capillary leak syndrome. Aprotinin.

## INTRODUÇÃO

A morbi-mortalidade da circulação extracorpórea (CEC) decorre, em grande parte, da limitada biocompatibilidade dos materiais, desencadeando a disfunção sistêmica multiorgânica pós-perfusão, expressa por depressão miocárdica, disfunção vasomotora, insuficiências respiratória, renal e hepática, desajustes cognitivos e de regulação térmica, e sangramento por coagulopatia, caracterizando a síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS) [1]. Neonatos e lactentes são susceptíveis à síndrome do extravasamento capilar sistêmico (SECS), caracterizando-se por edema tecidual generalizado, efusões pericárdicas, pleurais e/ou ascite. Tais síndromes decorrem da liberação de citocinas, histamina, bradicinina e outros agentes vasoativos, e da ativação leucocitária, endotelial, plaquetária, de células parenquimatosas, dos sistemas contato (calicreína), do complemento e de coagulação/fibrinólise [2].

Embora os adultos, na maioria, se recuperem bem, as crianças de baixo peso corpóreo, em especial neonatos e lactentes, com frequência, apresentam complicações decorrentes da reação inflamatória sistêmica. Estas podem determinar exposição a maior número de doadores de hemoderivados, tempo prolongado de hemostasia na sala de operações, necessidade de fechamento esternal tardio, com consequente prolongamento da ventilação mecânica e da estadia no Centro de Terapia Intensiva Pediátrica (CTIP), e preocupante morbi-mortalidade associadas a elevados custos hospitalares. Estratégias para prevêê-las, evitá-las ou combatê-las são de grande interesse, destacando-se os escores pré-operatórios de estratificação do risco, o refinamento anestésico e cirúrgico, e a otimização dos circuitos de CEC [3].

O uso de aprotinina, um inibidor de serina proteases inespecífico constituído por cadeia polipeptídica de 6512 Daltons, hidrofílica e básica, foi uma das estratégias farmacológicas para a redução da resposta inflamatória, cuja propriedade hemostática reduz perdas sanguíneas pós-CEC. A ativação das redes de coagulação, fibrinolíticas e inflamatórias é mediada por serina proteases [4]. Nas doses hemostáticas, o efeito antiinflamatório da aprotinina inclui a manutenção da função plaquetária, menor liberação de elastase e da ativação do complemento, inibição da “*up-regulation*” de moléculas de adesão de monócitos e granulócitos e redução da transmigração endotelial de neutrófilos. Diminui, também, a concentração plasmática de IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, e TNF- $\alpha$  e a produção de IL-8 nas vias aéreas, aumentando o nível sérico da IL-10 [3,4].

Os estudos pediátricos com aprotinina pecam por difícil interpretação [5], devido à ampla variação na posologia, à grande variabilidade do metabolismo e da ação antifibrinolítica da aprotinina em neonatos, à hemodiluição, à dispersão na idade e tipos de cardiopatia das coortes estudadas e às diferentes intervenções cirúrgicas efetuadas, com consequente variabilidade nos tempos de CEC e cirurgia [5,6], fatos inerentes à população submetida à cirurgia cardíaca pediátrica.

Os benefícios relacionados aos efeitos antiinflamatórios da aprotinina em crianças são imprecisos e escassos, relatando-se redução de gradientes de pressão transpulmonar após anastomose cavo-pulmonar [7] e redução das necessidades inotrópicas pós-operatórias [8]. Mössinger et al. [6], em 2003, demonstraram que este fármaco reduz índices de disfunção pulmonar e hemostática, mas não modifica marcadores inflamatórios séricos.

Não se demonstrara maior incidência de infarto

miocárdico (IM), insuficiência renal aguda (IRA) e acidente vascular cerebral (AVC) com aprotinina em adultos até que um estudo observacional não aleatório relatou o oposto, inclusive estabelecendo maior mortalidade em 5 anos após cirurgia. A fabricação da aprotinina foi suspensa em novembro de 2007. Os resultados do *Canadian BART study (Blood conservation using Anti-fibrinolytics: a Randomized Trial in a cardiac surgery population study)* sugerem aumento no risco de mortalidade [9,10].

Entretanto, em estudos recentes retrospectivos de coorte de crianças operadas com CEC, não houve associação entre o uso de aprotinina e IRA, diálise, complicações neurológicas e mortalidade [11], sendo relatado que o tempo de CEC acima de 100 minutos foi o principal marcador de disfunção renal pós-operatória em neonatos e não o uso do fármaco, que não foi associada com este risco no pós-operatório imediato [12,13]. A aplicação de dados de segurança em adultos para a prática pediátrica exige cautela e é de questionável validade, pois são duas populações distintas com fatores de risco distintos, e drogas que têm maior risco de complicações em adultos podem ser seguras em crianças, e vice-versa. As perspectivas para futuros estudos pediátricos randomizados e controlados com aprotinina revelam-se limitados no momento [10].

Com base no exposto, tendo em vista a suspensão temporária da fabricação da aprotinina, associado ao fato de não se relatarem efeitos adversos significativos em crianças, especialmente renais, e de haver escassas informações disponíveis sobre a sua influência na reação inflamatória sistêmica em crianças, quando utilizada com finalidade hemostática, o que desperta ainda intenso interesse científico atual, o presente trabalho foi efetuado na tentativa de demonstrar a ação antiinflamatória da aprotinina em altas doses num subgrupo de crianças acianóticas operadas em nosso serviço.

Esse estudo por **objetivo** verificar os efeitos antiinflamatórios da administração intra-operatória de aprotinina em altas doses em crianças submetidas à correção de cardiopatias congênitas acianogênicas com CEC.

## MÉTODOS

### Pacientes

Foram estudadas 19 crianças, de ambos os sexos, submetidas à correção de cardiopatia congênita acianogênica, com CEC, de janeiro a dezembro de 2004. Os pacientes foram distribuídos, aleatoriamente, em dois grupos: Grupo Aprotinina (n=10) e Grupo Controle (n=9). O estudo foi prospectivo, randomizado e não cego. Os critérios de inclusão foram operações não realizadas em caráter de urgência e idade entre um mês e quatro anos. Os de exclusão: operação cardiovascular prévia, exposição à

aprotinina nos seis meses anteriores à intervenção cirúrgica; uso de salicilatos até 7 dias antes da operação; distúrbios alérgico-imunológicos, hepáticos, renais ou de coagulação e episódios de parada cardíaca, sepses e vasculite, há menos de dois meses. Os pais ou o responsável legal assinaram termo de consentimento informado. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC FMRP-USP), sob o processo nº 6665/2004.

### Metodologia

A distribuição dos pacientes, nos dois grupos, deu-se por sorteio, após a indução anestésica.

### Técnicas anestésica e cirúrgica

Na sala cirúrgica, as crianças em decúbito dorsal horizontal, sobre colchão térmico e sob fluxo de ar aquecido, foram monitorizadas com eletrocardiograma (ECG) e oximetria. A indução e plano anestésicos constaram de midazolam, fentanil ou sulfentanil, associada à inalação de isoflurano, e o relaxamento muscular, com vecurônio ou pancurônio. Após intubação orotraqueal, foi iniciada ventilação pulmonar mecânica. A monitorização invasiva da pressão arterial (PA), da pressão venosa central (PVC), das temperaturas (orofaríngea e periférica) e da diurese foi semelhante entre as crianças. Não foi utilizado corticosteroide. Após a indução anestésica, administrouse ampicilina (7,5 mg/kg endovenosa) associada à cefazolina (40 mg/kg endovenosa), nas crianças internadas havia menos de 48h. Nas demais, a associação foi com vancomicina (10 mg/kg endovenosa). Dose adicional de vancomicina (5 mg/kg) foi acrescentada no reservatório do oxigenador.

A aprotinina (Trasylo®l®, Bayer, Leverkusen, Germany), na dose de 240 mg/m<sup>2</sup> endovenosa, foi infundida por 20 a 30 min, a partir do início da incisão cirúrgica, seguindo-se infusão contínua de aprotinina, de 56mg/m<sup>2</sup>/h até completar-se o curativo. A droga (240 mg/m<sup>2</sup>) foi também adicionada ao perfusato do oxigenador. Dez minutos antes da infusão de aprotinina fez-se teste de sensibilidade com minidose de 10.000 UIC (unidades inibidoras de calicreína), endovenosa. Sob antisepsia tópica com povidine alcoólico, fez-se esternotomia mediana e timectomia total. As crianças foram heparinizadas (3 mg/kg, endovenosa) (Heparina sódica, Roche, Basle, Suíça), sob controle do Tempo de Coagulação Ativada (TCA) (Hemotec ACT II®, Medtronic, Englewood, CO, EUA), de modo a manter TCA acima de 480s, nos dois grupos (com doses adicionais de heparina, 0,5 mg/kg endovenosa).

A aorta ascendente e as veias cavas foram canuladas. Na CEC, efetuada com drenagem venosa passiva, utilizaram-se oxigenadores de membrana de fibra capilar

oca, principalmente Polystan Safe Mini ou Micro (Maquet GmbH & Co, KG, Medical Systems Com. Ind. Medica Ltda., SP, Brasil) ou D901 Lilliput 1 DIDECO (Cobe CV, Sorin Group Company, Mirandola, Italy), com os respectivos filtros arteriais. Empregaram-se bombas de roletes, com fluxo arterial, em normotermia, de 2,5 l/m<sup>2</sup>/min. A temperatura orofaríngea, na CEC, foi reduzida para 28°C, por termopermutação, no oxigenador. O perfusato foi calculado para resultar com hematócrito de 30% e consistiu de concentrado de hemácias, solução de Ringer, plasma fresco congelado, Manitol a 20% (4 a 5 ml/kg), heparina sódica 1 mg/10 ml de hemoderivado e bicarbonato de sódio a 8,4% 1mEq/kg. No grupo Aprotinina, o volume da droga adicionado ao perfusato foi incluído no cálculo. Hemoconcentradores com membrana de poliariletersulfona serviram para ultrafiltração, iniciada no reaquecimento.

O hematócrito durante a CEC foi mantido por adição de concentrado de hemácias. Após o pinçamento aórtico, a cardioplegia anterógrada hipercalêmica (10 ml/kg), a 4°C, suspensa a um metro de altura, em relação à mesa cirúrgica, foi infundida passivamente, na raiz aórtica e repetida a cada 30 min. A primeira dose foi cristalóide e as demais, sanguíneas. O reaquecimento sistêmico, até 37°C, foi iniciado simultaneamente com a infusão (0,5 a 1,5 µg/kg/min) de nitroprussiato de sódio. Finalizada a CEC, as cânulas aórtica e da veia cava superior eram removidas, e a linha arterial era conectada à cânula da veia cava inferior. O volume presente no oxigenador passou a ser ultrafiltrado, nos intervalos entre as reposições de volume, infundidas pela cânula da veia cava inferior. Administrou-se cloridrato de protamina (ICN Farmacêutica Ltda., Valeant Pharmaceuticals International, USA), proporção de 1:1, em relação à dose total de heparina utilizada, e confirmou-se o retorno do TCA aos níveis basais. O sangue restante no circuito da CEC foi recuperado em bolsas de transferência sem anticoagulante para, após a descanulação, infusão endovenosa pelo cateter venoso. O pericárdio foi fechado, caso não gerasse instabilidade hemodinâmica. Dreno mediastinal. Fechamento por planos.

#### Características clínicas pré-operatórias

Foram analisadas variáveis demográficas (idade, sexo, peso, altura e superfície corpórea) e calculadas as categoria de risco segundo os escores RACSH-1 e Aristóteles Básico, bem como o de Ross e Reithmann, modificado, para insuficiência cardíaca congestiva (ICC), pois podem influenciar a resposta inflamatória sistêmica. As medicações em uso, a presença de arritmias, eletrocardiograma, radiografia do tórax, ecodopplercardiograma e cateterismo cardíaco e o diagnóstico cirúrgico foram registrados. As variáveis hemodinâmicas foram documentadas (pressão arterial pulmonar e sistêmica), e obtido hemograma, coagulograma e testes de função renal (uréia e creatinina

plasmáticas) e hepática (transaminase glutâmico-oxalacética - TGO e bilirrubinas), como marcadores de disfunções orgânicas decorrentes de SRIS e/ou SECS.

#### Dados cirúrgicos

Foram registrados operação realizada, vias de acesso intracardíaco, e variáveis duração da operação, da anestesia e da CEC, tempo de pinçamento aórtico, temperatura mínima na orofaringe, balanço hídrico, diurese, volume de concentrado de hemácias e de plasma fresco e de concentrado plaquetas, TCA antes, durante e após a CEC e complicações.

#### Condições clínicas pós-operatórias

O manuseio pós-operatório obedeceu a protocolo preestabelecido pela equipe. Na chegada no CTIP, foi calculado o escore PRISM (*"Pediatric Risk Index Score for Mortality"*). Os critérios para avaliar resposta inflamatória sistêmica (SRIS e SECS) [1,2,14] foram verificados nas 48 horas seguintes. Critérios para avaliação de quadros hemodinâmico, respiratório e metabólico, escala de coma de Glasgow e disfunção hepática foram computados [14], bem como as complicações pós-operatórias.

Retrospectivamente, calculou-se o índice recentemente proposto por Mattos et al. [15], em 2006. Os tempos de uso de inotrópicos e de drogas vasoativas EV, o tempo de utilização de óxido nítrico, e a duração de permanência na CTIP e o decorrido até a alta hospitalar ou o óbito foram medidos, assim como a duração da ventilação pulmonar mecânica (VM). O sangramento pós-operatório acumulado nas 4, 12, 24 e 48 h, e a utilização de hemoderivados, com 6 e 24 h de pós-operatório, foram expressos em ml/kg, e o número de doadores a que os pacientes foram expostos foi registrado. Disfunção renal foi avaliada pelo volume de diurese, dosagem de uréia e creatinina plasmáticas e depuração estimada de creatinina (fórmula de Schwartz).

#### Avaliação bioquímica e hematológica

Amostras de sangue arterial (3 ml) foram coletadas nos seguintes momentos: T1: Após indução da anestesia, antes do início da administração da aprotinina; T2 - 15 minutos após o início da CEC; T3 - Imediatamente antes do término da CEC; T4 - Cinco minutos após a administração de protamina; T5 - 48 horas após T4; T6 - 12 horas após T4; T7 - 24 horas após T4; T8 - 48 horas após T4.

As contagens de leucócitos e plaquetas foram verificadas nos tempos T1 a T8. A gasometria e o lactato sérico foram determinados no sangue arterial (analisador RapiLab 860, Bayer AG, Leverkusen, Germany), nos tempos T1 a T8.

Quanto à dosagem de marcadores inflamatórios, 3 ml de sangue de cada amostra foram preservados em tubos sem

anticoagulante, com gel separador (BD Vacutainer Systems®, Belliver Industrial State, Plymouth, UK) a 4° C, e, posteriormente, centrifugadas à mesma temperatura (10 min, a 3000 rpm). O soro obtido foi pipetado e armazenado a temperatura de -70° C, em tubos tipo Eppendorf, para posterior processamento por ensaio imunoenzimático (ELISA), para dosagem de TNF- $\alpha$  (fator de necrose tumoral alfa), IL (interleucina)-6, IL-8 e IL-10 (BD OptEIA set e kit II, BD Biosciences Pharmingen, San Diego, CA, EUA) em alíquotas de 150  $\mu$ l ou mais de plasma. A análise foi realizada no Laboratório de Endocrinologia do HC-FMRP-USP. O perfil cinético dos níveis séricos de citocinas TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 e IL-10 foram quantificados e corrigidos para a hemodiluição pela albumina sérica. A albumina foi dosada no plasma, por método de colorimetria, em espectrofotômetro marca Bausch & Lomb (Modelo Spectronic 70.1, USA), nos tempos T1 a Tn (T2 a T4) (valores normais de 3,5 a 5,5 g/dl). A correção foi feita utilizando-se a seguinte fórmula:

$$\text{Concentração corrigida em Tn} = \frac{\text{Concentração obtida em Tn} \times \text{albuminemia inicial (T1)}}{\text{Albuminemia correspondente detectada em Tn}}$$

### Análise estatística

As variáveis qualitativas foram expressas em frequências relativas e absolutas. As quantitativas foram expressas pelos valores mínimos e máximo, média, mediana, desvio padrão e quartis. O estudo apresenta variáveis contínuas mensuráveis colocadas em escala e categorizações de dois grupos e oito tempos. Como variável independente, tem-se o tratamento com aprotinina e os tempos nos quais foram tomadas as medidas das variáveis dependentes (T1 a T8). A comparação intergrupos de variáveis para análise, particularmente citocinas, contagem leucocitária, e valores de hemoglobina e hematócrito, foi utilizando modelo de efeitos mistos para cada variável dependente (efeitos fixos e aleatórios), onde as respostas de um mesmo indivíduo estão agrupadas (pacote PROC MIXED®, do programa SAS/STAT®, versão 9, SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA), pois foi considerada a distribuição normal. Para que os pressupostos associados ao modelo proposto fossem integralmente atendidos, algumas transformações tipo logarítmica ou Box-Cox foram utilizadas, e são indicadas nos resultados quando os mesmos são apresentados. O modelo é semelhante ao ANOVA, porém, como se trabalha com pessoas, utilizou-se o efeito aleatório (assumindo que a amostra é da população, no caso deste estudo, de crianças operadas em nosso hospital) e a resposta de cada indivíduo (que é particular). O modelo trabalhou simultaneamente cada resposta em cada tempo. Como o pressuposto resíduo zero e variância constante foram testados e satisfeitos, os dados puderam

ser descritos pela distribuição normal, considerando-se válidos o método paramétrico. Foi utilizado, também, o coeficiente de correlação de Pearson (pacote PROC CORR®, do programa SAS/STAT®, versão 9, SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA), no intuito de verificar correlações entre as variáveis citocinas.

Nas comparações de subgrupos, bem como nas intra e intergrupos nas demais variáveis, foi utilizado o teste não-paramétrico exato de Wilcoxon (programa Software R Development Core Team (2005). R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>) para duas amostras independentes, sendo indicados nos resultados.

Nas figuras com representações tipo caixas, os limites horizontais correspondem ao 25° e ao 75° percentis, a linha no interior da caixa corresponde à mediana e os limites e linhas externas às caixas refletem a variância da variável. O ponto cheio expressa a média, e os pontos vazios, os valores discrepantes. Valores de  $P < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes.

## RESULTADOS

Na comparação entre médias e desvios padrões dos grupos, as do grupo aprotinina precederão. Nas Figuras, as diferenças estatisticamente significativas intragrupos, em relação a T1, estão identificadas por \*, e as intergrupos, por \*\*.

### Pré-operatório

Como o nosso serviço é em hospital geral de referência terciária, a maioria das crianças, mesmo eletivamente, ficou tempo variável de internação antes da operação. Os grupos que se conseguiram obter no referido período de levantamento foram semelhantes quanto à idade e às variáveis antropométricas (Tabela 1). Exceto pelo escore de Ross, modificado, pouco mais acentuado no grupo aprotinina (medianas 5,5 vs. 3) os de RACHS-1 (mediana 2) e Aristóteles básico (mediana 6) foram semelhantes nos dois grupos (Tabela 2).

Tabela 1. Idade (d), peso (g), altura (cm) e superfície corpórea ( $m^2$ ) (média  $\pm$  desvio padrão), dos grupos Aprotinina e Controle. A mediana aparece entre parênteses. Não houve diferença significativa entre os grupos ( $P > 0,05$ ).

	Grupo	
	Aprotinina(n=10)	Controle(n=9)
Idade (d)	300 $\pm$ 406(123)	286 $\pm$ 449(132)
Peso (g)	6067 $\pm$ 3714(4665)	6173 $\pm$ 4009(4800)
Altura (cm)	63 $\pm$ 16(59)	63 $\pm$ 14(60)
Superfície corpórea( $m^2$ )	0,31 $\pm$ 0,14(0,26)	0,32 $\pm$ 0,16(0,27)

As malformações cardíacas foram similares nos dois grupos (Tabela 3), bem como as operações realizadas. Os grupos foram considerados estatisticamente homogêneos e comparáveis. Não houve casos de urgência incluídos neste estudo. Foram excluídas três crianças do estudo decorrente de detecção de infecção pré-operatória (um caso), do grupo aprotinina, e de uso de corticosteróide por indicação do anestesista (dois casos, um de cada grupo), após o sorteio.

### Intra-operatório

Nos grupos Aprotinina e Controle, as durações da operação e da anestesia, tempos de CEC e de pinçamento aórtico (anóxia) e a temperatura orofaríngea mínima (hipotermia) em CEC não apresentaram diferença estatisticamente significativa. Os oxigenadores tiveram distribuição semelhante nos grupos. O volume total de perfusato e adições foram ligeiramente maiores no grupo Controle, mas sem diferença significativa. A volemia estimada e a utilização de concentrado de hemácias, em CEC, foram semelhantes nos grupos. Quanto ao balanço sanguíneo intra-operatório, tendeu-se a negativo no grupo Aprotinina ( $P=0,05$ ) (Tabela 2).

A quantidade total de aprotinina administrada foi de  $177,56 \pm 77,76$  mg, correspondendo a  $126,84 \pm 55,55$  ml de Trasylol. A quantidade total de heparina foi similar ( $39,2 \pm 15,3$  mg, mediana = 33,5 mg vs.  $39,0 \pm 16,7$  mg, mediana = 30 mg) e correspondeu a  $7,4 \pm 2,9$  vs.  $7,1 \pm 3,8$  mg/kg peso ( $P>0,05$ ).

O volume hemofiltrado ( $378 \pm 244$  ml vs.  $335 \pm 319$  ml) na CEC e a diurese (ml/kg) dos dois grupos, antes ( $4,60 \pm 4,39$  vs.  $2,64 \pm 2,64$ ), durante ( $19,22 \pm 18,53$  vs.  $18,13 \pm 17,81$ ) e

após ( $21,22 \pm 31,64$  vs.  $11,93 \pm 5,66$ ) a CEC, foi semelhante ( $P>0,05$ ). O tempo de fechamento do tórax foi superponível ( $28,5 \pm 9,1$  min vs.  $28,8 \pm 17,4$  min).

### Pós-operatório

O balanço hídrico na admissão na CTIP, foi semelhante nos grupos ( $24 \pm 77$  ml/kg, mediana = 25 ml/kg vs.  $31 \pm 32$  ml/kg, mediana = 35 ml/kg) ( $P=0,60$ ). O escore PRISM tendeu a pior, no grupo Controle, porém sem diferença significativa (Tabela 2).

Os dois grupos foram semelhantes quanto ao índice clínico-cirúrgico de Mattos ( $5,3 \pm 2,2$ , mediana = 5,5 vs.  $4,7 \pm 1,6$ , mediana = 5) ( $P>0,05$ ), confirmando que os grupos são convenientemente comparáveis e homogêneos (Tabela 3). Setenta por cento das crianças do grupo Aprotinina e 88,8% das do grupo Controle estavam na categoria de risco intermediário (idades entre 1 mês e 1 ano). Desnutrição protéico-calórica ocorreu em 90% vs. 77,7% das crianças e, em quase todas, com critério de alto risco (abaixo do 5º percentil). Pela presença de insuficiência cardíaca, hipertensão pulmonar e/ou síndrome genética (fatores clínicos de risco associados), praticamente a metade (50% vs. 55,5%) das crianças dos dois grupos eram de alto risco. Todas as crianças do grupo Controle se enquadraram na categoria de baixo risco quanto à complexidade cirúrgica (escore Aristóteles básico), ocorrendo em 80% do grupo aprotinina (devido ao diagnóstico intra-operatório de DVSVD) (Tabela 3). Quanto ao tempo de CEC, todos os pacientes, exceto por um do grupo aprotinina que excedeu 90 min, foram de risco intermediário.

Tabela 2. Comparação entre variáveis peri-operatórias dos grupos Aprotinina e Controle. Valores em medianas; 1º e 3º Quartis aparecem entre parênteses.

Variáveis	Grupo Aprotinina (n=10)	Grupo Controle (n=9)	P – valor*
Escore RACHS - 1	2,0 (2,0; 2,0)	2,0 (2,0; 2,0)	0,11
Escore Aristóteles Básico	6,0 (5,7; 8,25)	6,0 (6,0; 6,0)	0,82
Escore de Ross e Reithmann	5,5 (1,75; 7,0)	3,0 (2,0; 6,0)	0,56
Duração da operação (min)	185,0 (172,5; 216,2)	210,0 (170,0; 220,0)	0,87
Duração da anestesia (min)	325,0 (300,0; 337,5)	270,0 (270,0; 320,0)	0,09
Tempo de CEC (min)	62,5 (51,25; 72,50)	70,0 (65,0; 70,0)	0,27
Tempo de anóxia (min)	36,0 (30,0; 43,7)	45,0 (41,0; 45,0)	0,13
Hipotermia em CEC (°C)	28,7 (27,1; 30,5)	29,1 (27,4; 30,4)	0,81
Volume perfusato (ml)	348,2 (304,2; 380,9)	370,0 (315,0; 479,0)	0,45
Volume circulante estimado (ml)	709,06 (668,5; 1060,3)	783,2 (683,0; 1118,9)	0,90
Volume concentrado hemácias (ml)	215,0 (200,0; 257,5)	250,0 (200,0; 265,0)	0,64
Volume concentrado hemácias (ml/kg)	47,5 (25,5; 63,6)	52,0 (29,1; 58,6)	0,60
Balanço sanguíneo (ml)	15,0 (-110,0; 120,0)	150,0 (90,0; 180,0)	0,05
Escore PRISM admissão	3,0 (2,0; 4,7)	7,0 (4,0; 11,0)	0,07
Tempo de ventilação mecânica (h)	36,0 (7,5; 138,75)	16,0 (4,0; 72,0)	0,81
Tempo de uso inotrópicos (h)	132,0 (66,0; 186,0)	48,0 (31,7; 107,2)	0,12
Tempo de Permanência no CTIP (dias)	5,5 (2,0; 8,5)	3,0 (1,6; 5,0)	0,27

\*Teste de Wilcoxon – comparação entre os grupos Aprotinina e Controle

Tabela 3. Idade (dias), sexo, peso (g), escores pré-operatórios de Ross, RACHS-1 e básico de Aristóteles e índice clínico-cirúrgico de Mattos dos pacientes operados com os respectivos diagnósticos.

Paciente Nº ordem	Idade (dias)	Sexo	Peso (g)	Ross	RACHS-1	Arist	Mattos	Diagnóstico pré e intra-operatório
GRUPO APROTININA								
1	137	F	4300	7	2	6	6	CIV + PCA
2	47	M	3450	5	2	6	6	CIV + CIA + PCA
3	189	M	5150	1	3	10,3	8	DVSVD + PCA + FOP
4	519	M	8175	0	2	5,6	3	EPV + PCA
5	86	M	3320	7	3	10,3	8	DVSVD + PCA
6	408	M	9000	8	2	6	4	CIV + Bandagem AP* + FOP
7	1366	M	15000	1	2	4	1	DSAV parcial + CIA + PCA
8	110	M	5030	4	2	6	5	CIV + PCA + FOP
9	109	F	3650	7	2	9	7	CIVs múltiplas + CIA + PCA
10	33	M	3600	6	2	5,6	5	EPV + PCA + FOP
GRUPO CONTROLE								
1	256	F	6870	2	2	6	5	CIV + PCA
2	37	M	2200	6	2	6	6	CIV + CIA + PCA
3	121	M	4800	3	2	6	6	CIV
4	242	F	6650	2	1	3	4	CIA
5	1468	F	15800	0	2	6,3	1	CIV + M SubAo + PCA
6	63	F	2890	5	2	6	6	CIV + CIA
7	185	F	7310	2	2	6	4	CIV
8	77	M	4520	8	2	6	5	CIV
9	132	M	4520	6	2	6	6	CIV + FOP

Abreviaturas: Arist – Aristóteles; F – feminino; M – masculino; CIV – comunicação interventricular; CIA – comunicação interatrial; PCA – persistência do canal arterial; DVSVD – dupla via de saída do ventrículo direito (diagnóstico intra-operatório); EPV – estenose pulmonar valvar; AP – artéria pulmonar; FOP – forame oval patente; DSAV – defeito do septo atrioventricular; M – SubAo- membrana subaórtica.  
\*Bandagem AP = ligadura de PCA realizada cirurgicamente com 18 dias de idade

Não houve diferenças estatisticamente significativas intergrupos nos tempos de utilização de óxido nítrico (um caso no grupo Aprotinina e dois casos no Controle) (216 vs. 118 h), ventilação mecânica, permanência no CTIP e de uso de inotrópicos (Tabela 2).

Nos grupos Aprotinina e Controle, detectaram-se congestão pulmonar grave (quatro vs. três pacientes), choque circulatório (cinco vs. três pacientes), anasarca em quatro (dois deles com ascite) vs. dois pacientes e efusões pleurais (dois em cada grupo). Ambos os grupos apresentaram hipertermia ( $37,8 \pm 1,2^\circ\text{C}$  vs.  $37,07 \pm 1,1^\circ\text{C}$ ) 4 h após a administração de protamina (T5) ( $P=0,09$ ), praticamente, normalizando em T7 e T8. A relação  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  foi semelhante, nos dois grupos. A queda em T7 em relação a T5 ( $246,38 \pm 129,39$  vs.  $224,14 \pm 165,71$ ) foi significativa apenas no Grupo Controle ( $P=0,04$ ).

O sangramento, nas primeiras 48h de pós-operatório, foi semelhante em ambos os grupos (17,6 vs. 18,1 ml/kg) ( $P>0,05$ ). Um paciente do grupo Aprotinina foi transfundido com concentrado de hemácias (10 ml/kg), em T5, por anemia, conforme protocolo do CTIP. Concentrado de plaquetas (12 ml/kg) foi utilizado em dois pacientes no grupo Controle (T6 e T7, respectivamente). O número de doadores de

hemoderivados a que foram expostas as crianças dos dois grupos foi semelhante (mediana de 2).

A diurese, até T5 (4 h após protamina), foi semelhante nos dois grupos ( $19,7 \pm 7,8$  vs.  $22,1 \pm 22,3$  ml/kg) ( $P=0,39$ ), seguindo-se de queda discreta em T6 ( $11,2 \pm 5,6$  vs.  $14,7 \pm 5,6$  ml/kg) ( $P=0,16$ ), com aumento significativo subsequente, em ambos os grupos, em T8 ( $43,0 \pm 13,8$  vs.  $69,7 \pm 32,4$ ) ( $P=0,19$ ).

Em T5, houve grande semelhança intergrupos quanto à uremia ( $18,0 \pm 5,2$  vs.  $17,4 \pm 6,9$  g/dl) e concentração plasmática de creatinina ( $0,3 \pm 0,1$  vs.  $0,3 \pm 0,1$  mg/dl), que aumentaram significativamente de T5 para T8, quando a uremia correspondeu a  $37,2 \pm 11,5$  vs.  $28,0 \pm 11,4$  g/dl ( $p<0,01$ ), e a concentração plasmática de creatinina, a  $0,56 \pm 0,15$  ( $P<0,01$ ) vs.  $0,48 \pm 0,22$  mg/dl ( $P=0,02$ ). Não houve diferença intergrupos ( $P>0,13$ ).

As taxas de hemoglobina ( $9,6 \pm 1,1$  vs.  $8,9 \pm 1,3$ ) ( $p=0,40$ ) e hematócrito ( $29,3 \pm 2,8$  vs.  $27,5 \pm 4,2\%$ ) ( $P=0,49$ ) basais foram discretamente menores em T1, no grupo Controle, porém sem diferença significativa. Ambos tiveram queda significativa de T1 para T2 ( $7,6 \pm 1,9$  vs.  $9,59 \pm 1,5$  g/dl e  $23,4 \pm 5,6$  vs.  $29,5 \pm 3,9\%$ ) ( $P<0,01$ ), sucedida por hemoconcentração progressiva até T5 ( $12,1 \pm 1,9$  vs.  $12,7 \pm 2,9$  g/dl e  $37,6 \pm 4,9$  vs.  $40,2 \pm 8,6\%$ ), cujo valor foi

estatisticamente maior que T1 ( $P < 0,01$ ). Em T2 e T3, a hemoglobina e o hematócrito foram significativamente menor, no grupo Aprotinina em relação ao grupo Controle ( $P < 0,01$ ).

A contagem leucocitária ( $n^\circ$  células/ $mm^3$ ), semelhante nos dois grupos ( $7580 \pm 2948$  vs.  $6711 \pm 1835$ ) ( $P = 0,62$ ), em T1, caiu com o início da CEC (T2) (Figura 1). Esse nadir em T2 alcançou significância estatística intragrupo no grupo Aprotinina ( $3722 \pm 1115$  vs.  $5411 \pm 2599$ ) ( $P < 0,01$ ), com diferença intergrupos também estatisticamente significativa ( $P = 0,04$ ). Antes da saída de CEC (T3), a contagem de leucócitos tendeu à recuperação, apenas no grupo Controle ( $7675 \pm 2961$ ), em relação à T1 ( $P = 0,40$ ), enquanto no grupo Aprotinina permaneceu pouco abaixo de T1 ( $6422 \pm 3574$ ) ( $P = 0,19$ ) (Figura 1). Após a CEC, a leucocitose foi significativa de T4 a T8 nos dois grupos ( $P < 0,01$ ), com pico em T7 ( $15866 \pm 8991$  vs.  $16680 \pm 4646,72$ ). Não houve diferença significativa intergrupos de T3 a T8 ( $P > 0,33$ ).

Quanto aos marcadores inflamatórios em T1, o TNF- $\alpha$  basal foi detectável nos dois grupos, sem diferença significativa ( $P = 0,10$ ). Os níveis basais de IL-6 e de IL-10 dos dois grupos foram supranormais e semelhantes ( $P = 0,10$ ). A maior proporção IL-6/IL-10 no grupo Aprotinina não alcançou diferença significativa em relação ao Controle ( $19,14 \pm 31,98$ , mediana =  $10,55$  vs.  $5,72 \pm 7,59$ , mediana =  $2,36$ ) ( $P = 0,54$ ).

O perfil cinético das citocinas (Tabela 4) não foi afetado pela aprotinina, sendo semelhantes intergrupos, e expressou elevação transitória de TNF- $\alpha$  (Figura 2) de padrão bifásico, com pico em T2, significativo apenas no grupo Controle ( $P < 0,01$ ), e picos de T4 a T5, sem diferença significativa em relação à T1 ( $P = 0,25$ ). Precedeu ao aumento prolongado de IL-6 (Figura 3), de T4 a T7 ( $P < 0,01$ ), e da quimiocina IL-8

(Figura 4), com pico em T4 nos dois grupos ( $P < 0,01$ ), sem diferença intergrupos. Houve liberação precoce de IL-10 (Figura 5), com máxima concentração sérica após reperusão em T4 nos dois grupos ( $P < 0,01$ ). Em T3 (antes da saída da CEC), a IL-10 do grupo Controle foi maior ( $P = 0,02$ ). Não foram encontradas correlações significativas entre estas variáveis.

A CEC induziu queda da proporção IL-6/IL-10 nos dois grupos (Figura 6). Nos dois grupos ocorreram dois picos desta fração, um em T5 e outro, maior, em T7 ( $13,66 \pm 14,08$  mediana =  $6,88$  vs.  $20,58 \pm 16,74$  mediana =  $15,70$ ), e em T8, permanecendo no grupo Aprotinina abaixo da basal ( $10,59 \pm 14,07$  mediana =  $6,40$ ) ( $P = 0,25$ ) e no grupo Controle, com tendência acima da basal ( $12,10 \pm 11,43$  mediana =  $5,28$ ) ( $P = 0,06$ ). No grupo Controle, ambos os picos foram significativamente maiores que T1 ( $P \leq 0,01$ ). Não houve diferença intergrupos.

Conforme os critérios previamente definidos, a SRIS ocorreu em 30% dos casos do grupo Aprotinina e em 44,4% do grupo controle. A SECS incidiu, respectivamente, em 40% e 22,2% deles. Os pacientes que desenvolveram SIRS nos dois grupos apresentavam escore clínico de Ross modificado maior, de 7 a 8 e de 2 a 8, respectivamente, enquanto nos demais (sem SRIS), esses escores foram de 0 a 7 e de 0 a 6. Observamos, inclusive, que as crianças com escore de Ross pré-operatório maior ou igual a 5, independentemente do grupo (Aprotinina ou Controle), apresentaram maiores tempos de ventilação mecânica, de permanência no CTIP e de internação hospitalar, comparados às crianças com escore menor do que 5 ( $P < 0,05$ ).

O índice clínico-cirúrgico de Mattos, nos pacientes com SIRS e/ou com SECS, teve mediana de 6 e, nos demais, de 4,5 a 5.

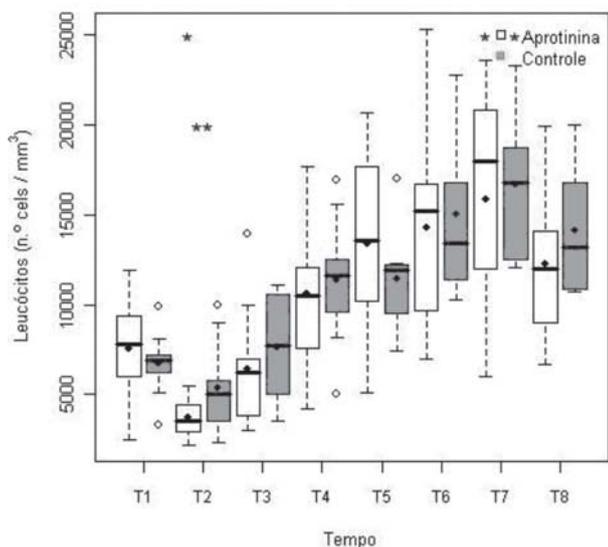


Fig. 1 - Contagem de leucócitos ( $n^\circ/mm^3$ ) nos grupos Aprotinina e Controle, nos tempos T1 a T8. Diferenças intragrupos (\*) e intergrupos (\*\*) estatisticamente significativas estão assinaladas (P-valor com transformação Box-Cox)

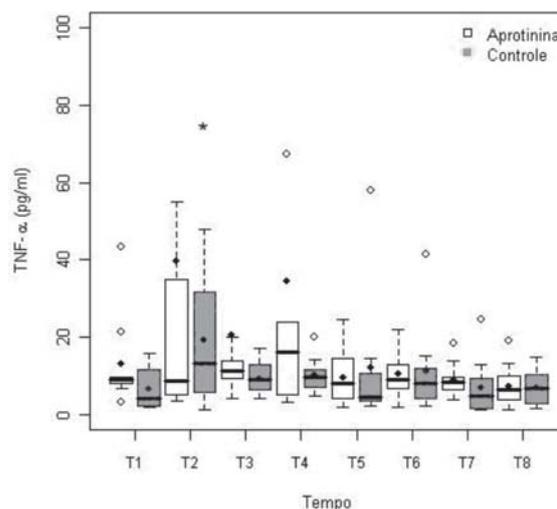


Fig. 2 - Perfil sérico bifásico da concentração sérica do Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) em pg/ml nos grupos Aprotinina e Controle, nos tempos de T1 a T8. As diferenças estatisticamente significativas intragrupo estão apontadas (\*) (P-valor com transformação Box-Cox)

Tabela 4. Dados laboratoriais obtidos nos grupos Aprotinina e Controle: TNF- $\alpha$ , Citocinas IL-6, IL-8 e IL-10 e relação IL-6/IL-10.

Variável	Grupos	Tempos							
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
TNF- $\alpha$ (pg/ml)	Aprotinina	13,19 (12,28)	39,83 (78,43)	20,72 (31,46)	34,49 (54,67)	9,60 (7,00)	9,74 (7,06)	9,07 (4,27)	7,36 (5,78)
	Controle	6,82 (5,41)	19,35* (15,82)	9,38 (4,32)	10,37 (4,64)	12,21 (17,60)	11,21 (12,14)	7,04 (8,05)	7,03 (4,90)
IL-6 (pg/ml)	Aprotinina	160,34 (217,47)	249,83 (226,74)	148,35 (91,51)	374,00* (186,79)	376,70* (250,54)	349,27* (327,10)	322,44* (286,81)	164,45 (178,43)
	Controle	40,54 (42,94)	80,91 (76,20)	180,76* (177,86)	315,88* (313,09)	285,15* (223,46)	329,40* (236,26)	305,02* (232,48)	189,68* (170,37)
IL-8 (pg/ml)	Aprotinina	10,28 (4,17)	45,87* (47,47)	70,67* (58,48)	281,50* (275,21)	148,32* (98,26)	123,97* (114,62)	81,43* (69,22)	70,06* (88,87)
	Controle	13,38 (8,53)	47,37* (44,61)	82,63* (47,86)	165,62* (84,32)	95,93* (67,70)	79,10* (56,60)	56,30* (47,24)	37,22* (30,72)
IL-10 (pg/ml)	Aprotinina	19,42 (18,17)	66,46* (82,38)	69,04* (68,14) <sup>a</sup>	266,30* (250,17)	52,83* (35,31)	57,57* (41,42)	31,62* (17,57)	22,15 (14,36)
	Controle	10,77 (10,43)	31,41* (17,32)	156,48* (262,12) <sup>a</sup>	449,72* (659,08)	28,10* (16,22)	34,17* (24,73)	17,84 (14,42)	20,44* (11,66)
IL-6/IL 10	Aprotinina	19,15 (31,99)	6,54 (9,97)	3,81 (3,53)	3,99 (4,23)	13,25 (13,25)	11,73 (13,65)	13,66 (14,08)	10,59 (14,07)
	Controle	5,73 (7,6)	3,27 (3,49)	3,80 (5,40)	3,12 (4,49)	14,07* (14,97)	10,75** (7,97)	20,58* (16,74)	12,10 (11,43)

Dados são Média  $\pm$  Desvio padrão; Aprotinina (n=10); Controle (n=9).

<sup>a</sup> P<0,05 entre os valores Aprotinina vs. controle (Transformação Box-Cox); \* P<0,01 em relação a T1 (Transformação Box-Cox); \*\* P=0,02 em relação a T1 (Transformação Box-Cox)

Tempos: T1: Após indução da anestesia, antes do início da administração da Aprotinina; T2 - 15 min após o início da CEC; T3 - Imediatamente antes do término da CEC; T4 - Cinco min após a administração de protamina; T5 - Quatro h após T4; T6 - Doze h após T4; T7 - Vinte e quatro h após T4; T8 - Quarenta e oito h após T4

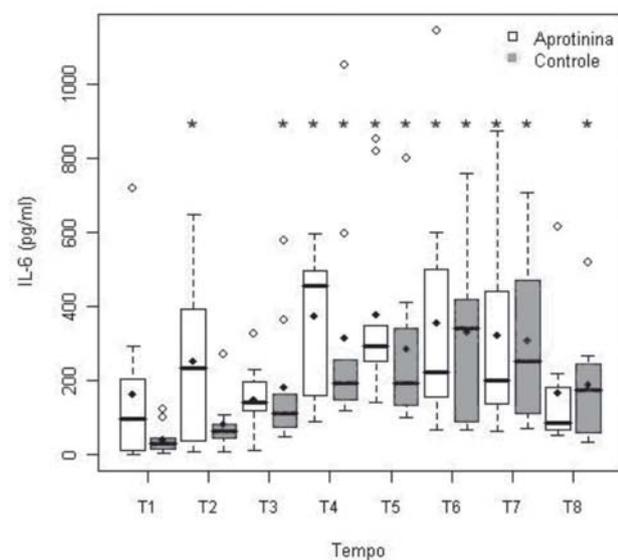


Fig. 3 - Níveis séricos de IL-6 (pg/ml) nos grupos Aprotinina e Controle, nos tempos T1 a T8. As diferenças intragrupo, estatisticamente significativas, estão expostas (\*) (P-valor com transformação Box-Cox)

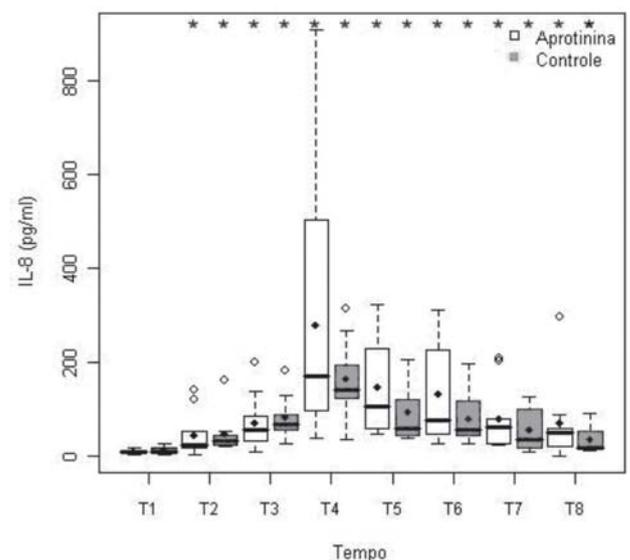


Fig. 4 - Níveis séricos de IL-8 (pg/ml) nos grupos Aprotinina e Controle, nos tempos T1 a T8. As diferenças estatisticamente significativas intragrupo estão indicadas (\*) (P-valor com transformação Box-Cox)

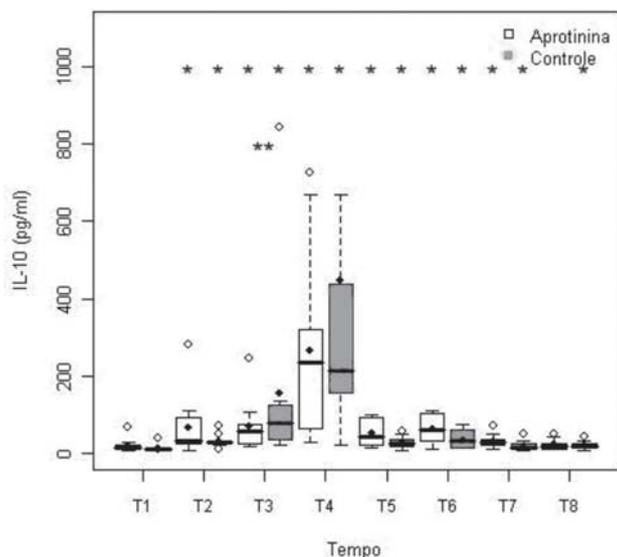


Fig. 5 - Níveis séricos de IL-10 (pg/ml) nos grupos Aprotinina e Controle, nos tempos T1 a T8. As diferenças estatisticamente significativas, intra (\*) (P-valor com transformação Box-Cox) e intergrupos (\*\*) (P-valor com transformação Box-Cox) estão indicados

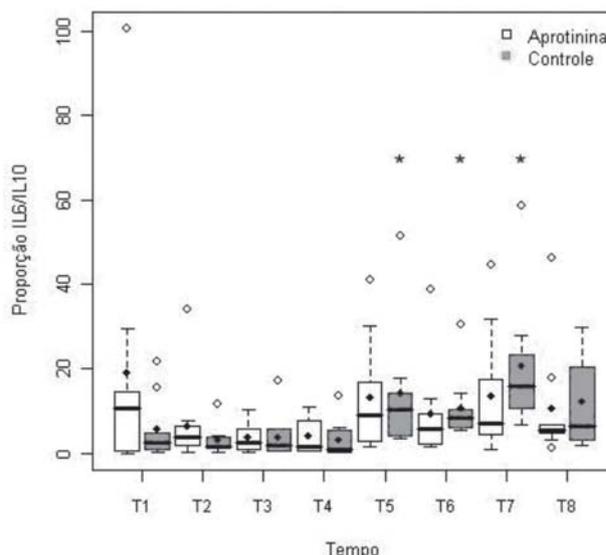


Fig. 6 - Proporção IL-6/IL10 nos grupos Aprotinina e Controle, nos tempos T1 a T8. As diferenças estatisticamente significativas intragrupo estão assinaladas (\*) (P-valor com transformação Box-Cox)

Nos dois grupos, ocorreram disfunções cardiovasculares (60% vs. 33,3%), renais (30% vs. 22,2%) e respiratórias (40% vs. 22,2%), sem diferença estatisticamente significativa. Duas crianças do grupo Controle sofreram disfunção hematológica. Não houve casos de disfunção neurológica ou hepática. Complicações pulmonares infecciosas ocorreram em ambos os grupos (20% vs. 33,3%).

Os tempos de internação no CTIP e hospitalar não foram alterados significativamente pela SRIS e/ou SECS. Não houve óbitos. Todos os pacientes receberam alta hospitalar, em boas condições clínicas e de cicatrização. A avaliação ecodoppler cardiográfica pós-operatória demonstrou bom resultado cirúrgico em todos os pacientes. Não se observaram problemas alérgicos, hipotensão e tampouco trombose, como efeitos adversos da aprotinina.

## DISCUSSÃO

Discutiu-se muito a utilização da aprotinina para controle hemostático em cirurgia cardíaca quanto à relação custo-benefício, pelo alto custo e eventuais efeitos adversos que contraindicassem seu emprego em casos de menor risco. Todavia, havia utilidade potencial em crianças predispostas ao sangramento e à síndrome inflamatória sistêmica [5,16], como as operadas no Brasil, com importante grau de desnutrição. Tendo em vista a suspensão temporária da fabricação da aprotinina, embora em crianças não se tenham relatado efeitos adversos significativos como referido nos adultos [11-13], e associado ao fato de haver escassas

informações disponíveis sobre a sua influência na reação inflamatória sistêmica nas doses hemostáticas, essas considerações suscitaram a presente investigação, na qual se buscou benefício hemostático com uso de aprotinina em altas doses em crianças cardiopatas acianóticas operadas com CEC avaliando-se a possível ação antiinflamatória associada, o que não foi confirmado nesta casuística.

A faixa etária neste estudo foi restrita ao período entre 30 dias a 4 anos de vida em crianças acianóticas, a fim de tentar reduzir a dispersão da idade e do tipo de cardiopatia, em contrapartida a estudos semelhantes, pois englobavam crianças cianóticas, acianóticas e neonatos, com cardiopatias diversas em complexidade. Observamos que, em nosso hospital, a ocorrência de cardiopatia congênita acianogênica nesta faixa etária escolhida não é muito frequente, sendo registrados cerca de 30 casos por ano, em média (dados não publicados, de 2005 e 2006). Os 19 pacientes incluídos neste estudo foram considerados, portanto, uma amostra representativa da população de indivíduos que apresentam esta cardiopatia e que são operados em nosso hospital, pelo fato de a mesma não ser numerosa. Os neonatos foram excluídos, devido à sua maior propensão às complicações da CEC [15] secundárias à intensa resposta neuroendócrina à lesão tecidual, à grande liberação de citocinas e à menor resposta neutrofílica [17], comparadas às crianças com mais de 1 mês de vida.

Não obstante a estimativa de mortalidade intra-hospitalar ou em 30 dias, de 1 a 5%, com base nos escores de risco mais difundidos (RACHS-1 e Aristóteles), não

ocorreram óbitos neste estudo. O bom resultado cirúrgico ficou reforçado pelo índice clínico-cirúrgico, mais recente, proposto no Brasil [15], cujos escores, (5,5 vs. 5) correspondem a riscos de morte de 11,70% a 23,98%, devidos, principalmente, à prevalência de baixo peso corpóreo, indicativo de desnutrição, e de síndromes genéticas, hipertensão pulmonar e insuficiência cardíaca congestiva, o que certamente influenciaram a morbidade. Estes índices e escores semelhantes dos grupos operados confirmam a homogeneidade necessária para análise, destacando-se a variabilidade nos pesos, incompatíveis em relação à idade, principalmente pelas alterações nutricionais decorrentes das cardiopatias.

Como se acredita que a aprotinina reduza o sangramento e a necessidade de transfusões por mecanismo dose-dependente [6], optamos pela utilização do protocolo pioneiro (Hammersmith Hospital), denominado de alta dose, proporcional à superfície corpórea, com o intuito de aperfeiçoar o benefício clínico, pois doses maiores poderiam ser necessárias para a ação antiinflamatória [18]. Com os cálculos baseados na superfície corpórea, as crianças recebem maiores quantidades de aprotinina do que quando as doses são baseadas apenas no peso. Infelizmente, a posologia, com certeza, teve o efeito colateral de introduzir um viés de maior hemodiluição no grupo tratado, confirmado pelos níveis significativamente menores de hemoglobina e hematócrito em CEC.

Dentro da realidade de nosso hospital, limitações comerciais determinaram a inclusão de dois modelos principais de oxigenadores, falha potencialmente grave, pela possível diferença de respostas biomaterial-dependentes nas interações sangue-circuito de CEC. É, no entanto, um aspecto ainda controverso atualmente, sendo razoável supor que isso não tenha ocorrido, pois além da distribuição dos oxigenadores ter sido semelhante nos dois grupos, Dubois et al. [19], em 2004, demonstraram desempenho e grau de hemólise semelhantes de dois (Lilliput e Safe Micro) dos mais empregados nesta pesquisa. Além disso, Jensen et al. [20], em 2003, constataram que oxigenadores de membrana de fibra oca, aqui empregados, atuam de forma semelhante, tanto nos sistemas de coagulação e fibrinólise, como nas concentrações séricas de citocinas TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-8, as quais mostraram-se, inclusive, similares quando se utilizaram outros oxigenadores, recobertos de heparina.

No grupo Aprotinina, a contagem leucocitária foi significativamente menor que no Controle e permaneceu abaixo dos valores basais, na CEC. Isso pode ter resultado da ação da droga sabidamente capaz, mesmo em baixas doses, de reduzir a mobilização neutrofílica, no final da CEC [18]. No entanto, a aprotinina não afetou a leucocitose pós-operatória, com pico 24 horas após protaminização, reconhecida como parte da resposta inflamatória sistêmica [2,18].

Conforme esperado [21], as citocinas pró-inflamatórias circulantes, indetectáveis em crianças saudáveis, mostraram-se elevadas nas amostras pré-operatória desta investigação, o mesmo valendo para a relação IL6/IL-10. Como foram excluídos os casos com evidências clínicas, laboratoriais e radiográficas de infecção ou inflamação, esse achado sugere a presença de condição inflamatória subclínica [22,23] gerada por grave disfunção hemodinâmica crônica, indutora de síntese miocárdica de citocinas, exacerbada por retro-alimentação pelos seus níveis sistêmicos [24]. A detecção pré-operatória de TNF- $\alpha$ , usualmente relacionada à endotoxemia [3], cujo aumento, em geral, antecede ao das demais citocinas [22], pode ter sido influenciada pela indução anestésica [25]. Juntamente com certa liberação adicional durante a CEC, a TNF- $\alpha$  pode ter desencadeado a cascata de manifestações clínicas pós-operatórias, citocina-dependentes [3], constituídas por febre, hipotensão arterial sistêmica, SECS, SRIS, coagulopatia e disfunção renal. Sabe-se, ainda, que o uso de concentrado de hemácias no perfusato pode fornecer também citocinas exógenas e causar e/ou contribuir para o aumento da IL-6, tanto durante a CEC, como no pós-operatório [3].

O perfil cinético das citocinas também não foi afetado pela aprotinina. Em ambos os grupos, expressou típica elevação transitória, de padrão bifásico, com picos precoces de TNF- $\alpha$  no início da CEC e 4h após a protaminização [17], precedendo o prolongado aumento da IL-6 e elevação da quimiocina IL-8, reguladora da leucodiapedese para sítios de inflamação [3].

Embora a aprotinina, como a prednisolona, possa inibir a produção de TNF- $\alpha$  durante a CEC [3], isso não ocorreu neste estudo, à semelhança de outros estudos, em adultos [26]. Em investigação similar realizada em nosso Serviço, por Carmona [27], em 52 crianças operadas, todas sob tratamento com aprotinina, o perfil cinético de TNF- $\alpha$  foi similar ao deste estudo. A IL-6 é marcador de lesão celular, com efeito pirógeno e inflamatório prolongados, em crianças submetidas à CEC [17], embora, curiosamente, também tenha atividade antiinflamatória. O fato da aprotinina não ter atenuado a liberação dessa citocina concorda com os dois outros únicos estudos aleatórios precedentes, efetuados em crianças [6,18] e com o estudo observacional de Carmona [27]. A IL-8, produzida por macrófagos, embora com papel fisiopatológico tido como limitado e controverso, tem potente ação recrutadora de leucócitos para focos inflamatórios, particularmente, pulmonares, mediando além da SRIS, a disfunção miocárdica [24,27].

Observamos aumento intergrupos progressivo e similar de IL-8, coincidente com o da IL-6, sucedendo o reaquecimento e o despinçamento aórtico, com pico 5 minutos após a protaminização. Esse achado foi similar ao de outros estudos, em crianças [17,27]. Isto é concordante também com os estudos de Mössinger et al. [6], em 2003 e

Carmona [27], em 2006, ambos em crianças, e com outros, em adultos [26], nos quais não se verificou diminuição da IL-8 com a aprotinina, em que pesem relatos recentes, em adultos, imputando à aprotinina efeito comparável ao de corticóides, no que se refere à redução da IL-8 [28].

A IL-10, cuja produção é estimulada pela TNF $\alpha$ , inibe a síntese das citocinas TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6, induz “*down regulation*” da produção de IL-8 e inativa macrófagos e monócitos [29]. Em nosso estudo, observamos aumento significativo da IL-10 desde o início da CEC, com pico após 5 min da infusão da protamina, padrão compatível com estudos prévios em crianças [27,30,31], comportamento esse similar ao encontrado em adultos [29]. Em que pese a discordância com estudos em adultos [4], o aumento da IL-10 sérica não foi afetado pela aprotinina, achado similar a outros estudos com crianças [6,27]. Não obstante, houve menores níveis de IL-10 logo antes do término da CEC, com o uso da aprotinina. Em uma metanálise recente de estudos sobre o efeito antiinflamatório da aprotinina em adultos, houve redução de IL-10, porém foi logo após administração de protamina e em uso de baixas doses de aprotinina [32]. Nesta metanálise não se demonstrou efeitos significantes da aprotinina em altas doses sobre todos os demais marcadores de citocinas sistêmicos avaliados em nossa casuística.

Segundo Taniguchi et al. [33], em 1999, nos pacientes que morreram por choque séptico e insuficiência de múltiplos órgãos, as concentrações de IL-6 aumentam gradualmente, enquanto surge “*down regulation*” da IL-10, fazendo com que a proporção IL-6/IL-10 cresça. Por isso, a proporção IL-6/IL-10 é um reconhecido previsor de mau resultado na sepse. Nesse trabalho, essa fração aumentou a partir de 4h após a administração da protamina, com pico em 24h, nos dois grupos, mas foi significativa apenas no grupo controle. Esse achado, sugerindo efeito benéfico da aprotinina, é de difícil discussão considerando-se a falta de observações prévias, em estudos semelhantes a este.

Não foi observada também eficácia clínica antiinflamatória evidente da aprotinina em nosso estudo, ocorrendo SIRS e SECS nos dois grupos, com tendência mais acentuada nas crianças com quadro clínico pré-operatório pior de ICC (maiores escores de Ross modificado), inclusive repercutindo no pós-operatório com maiores tempos de ventilação mecânica, permanência no CTIP e internação hospitalar quando o escore foi maior ou igual a 5, sugerindo a importância do estado inflamatório subclínico antes da operação [22,23]. Houve, também, maior tendência à ocorrência de SECS no grupo Aprotinina.

A diminuição significativa da relação PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> pós-operatória, no grupo Controle, compatível com lesão pulmonar aguda, não foi significativa no grupo Aprotinina, podendo-se inferir efeito protetor e antiinflamatório da

Aprotinina, embora clinicamente ineficaz, concordante com o relato recente de Williams et al. [34], em 2008, e contrário ao relato de Mössinger et al. [6], em 2003, que observaram redução do tempo de ventilação mecânica com o uso da droga.

O escore PRISM, na admissão na CTIP (3 vs. 7), sugeriu que a droga favoreceu a estabilidade metabólica e hemodinâmica inicial no grupo Aprotinina, mas a evolução clínica pós-operatória dos grupos foi similar. No grupo Aprotinina, houve, praticamente, maior incidência de disfunções orgânicas, tanto cardiovasculares (60% vs. 33,3%) quanto respiratórias (40% vs. 22,2%), embora sem diferença estatisticamente significativa. Essas taxas, porém, se situaram dentro do esperado para a faixa etária, pois se aceita que 50% dos pacientes apresentem disfunções pulmonares e cardiovasculares [2]. Houve semelhança de sangramento pós-operatório total entre os grupos, abaixo do relatado na literatura [6], porém a disfunção hematológica (plaquetopenia com sangramento) ocorreu apenas no grupo controle.

Não houve diferença intergrupos quanto à incidência de infecção pós-operatória. Embora em algumas investigações clínicas com aprotinina argumente-se que a droga aumenta o risco de mediastinite [35], ao mesmo tempo, há outros grupos que a empregam rotineiramente em transplantes cardíacos e pulmonares, sem incremento na taxa de infecção [36].

Uma limitação deste nosso estudo é a série pequena de casos para comparação entre os grupos, colhida de um único centro, embora prospectivo e randomizado, sendo os dados obtidos em um período determinado, com os procedimentos sendo realizados pelas mesmas equipes cirúrgicas, anestésicas, de perfusão e de pós-operatório. Os grupos foram considerados homogêneos e comparáveis (diagnósticos, operações realizadas, escores de Ross modificado, RACHS-1, Aristóteles básico, Mattos), caracterizando-se uma amostra representativa dentro da realidade de ocorrência da população e da faixa etária de cardiopatias congênitas acianóticas selecionadas, submetidas à cirurgia cardíaca pediátrica em nosso hospital, excluindo os neonatos, como já referido no início desta discussão.

Por outro lado, foi utilizado o teste mais poderoso para a amostra comparado com o teste não-paramétrico, sendo que a análise estatística por meio do referido modelo (regressão múltipla), com efeitos fixos (grupo e tempo fixados) e aleatórios (particularidades de cada criança), foi feita para avaliar o resíduo, checando-se se a distribuição é normal. Com os pressupostos da normalidade do resíduo e variância constante (variabilidade semelhante comparando-se os dois grupos) satisfeitos, permitiu-se demonstrar que o modelo e a amostra foram viáveis para análise estatística paramétrica, fornecendo os resultados de acordo com os

pressupostos do modelo, inclusive com transformações do tipo logarítmica ou Box-Cox. O risco é de não ser detectada uma possível significância entre os grupos que pode vir a existir se houvesse amostra maior, como no sangramento ou nos níveis séricos das citocinas. O erro que pode ocorrer é que a amostra do nosso estudo faça parte da amostra dos 5% que não representam a população (erro tipo I). A certeza de acerto é de 95% (intervalo de confiança).

Desse modo, nesta série, a aprotinina em altas doses hemostáticas não propiciou modificações significativas nos marcadores séricos inflamatórios e não influenciou clinicamente as manifestações das síndromes inflamatória sistêmica e extravasamento capilar, porém houve maior disfunção orgânica cardiovascular e respiratória no grupo em que foi utilizado. A reprodução deste estudo com ampliação da amostragem é, portanto, desejável e necessária, em estudos multicêntricos e/ou em serviços e equipes cirúrgicas com maior número de crianças operadas neste tipo de cardiopatia, porém dificultada atualmente pela retirada da aprotinina do mercado.

## CONCLUSÕES

Nesta casuística, a aprotinina em altas doses hemostáticas não minimizou as manifestações clínicas pós-operatórias e os marcadores séricos de resposta inflamatória sistêmica.

## REFERÊNCIAS

1. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*. 2003;31(4):1250-6.
2. Seghaye MC. The clinical implications of the systemic inflammatory reaction related to cardiac operations in children. *Cardiol Young*. 2003;13(3):228-39.
3. Laffey JG, Boylan JF, Cheng DC. The systemic inflammatory response to cardiac surgery: implications for the anesthesiologist. *Anesthesiology*. 2002;97(1):215-52.
4. Wegner J. Biochemistry of serine protease inhibitors and their mechanisms of action: a review. *J Extra Corpor Technol*. 2003;35(4):326-38.
5. Oliver WC Jr, Fass DN, Nuttall GA, Dearani JA, Schrader LM, Schroeder DR, et al. Variability of plasma aprotinin concentrations in pediatric patients undergoing cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2004;127(6):1670-7.
6. Mössinger H, Dietrich W, Braun SL, Jochum M, Meisner H, Richter JA. High-dose aprotinin reduces activation of hemostasis, allogeneic blood requirement, and duration of postoperative ventilation in pediatric cardiac surgery. *Ann Thorac Surg*. 2003;75(2):430-7.
7. Tweddell JS, Hoffman GM, Mussatto KA, Fedderly RT, Berger S, Jaquiss RD, et al. Improved survival of patients undergoing palliation of hypoplastic left heart syndrome: lessons learned from 115 consecutive patients. *Circulation*. 2002;106(12 Suppl 1):I82-9.
8. Wippermann CF, Schmid FX, Eberle B, Huth RG, Kampmann C, Schranz D, et al. Reduced inotropic support after aprotinin therapy during pediatric cardiac operations. *Ann Thorac Surg*. 1999;67(1):173-6.
9. Fergusson DA, Hébert PC, Mazer CD, Fremes S, MacAdams C, Murkin JM, et al. A comparison of aprotinin and lysine analogues in high-risk cardiac surgery. *N Engl J Med*. 2008;358(22):2319-31.
10. Twite MD, Hammer GB. The use of aprotinin in pediatric cardiac surgery: should we bid 'good riddance' or are we throwing out the baby with the bath water? *Paediatr Anesth*. 2008;18(9):809-11.
11. Backer CL, Kelle AM, Stewart RD, Suresh SC, Ali FN, Cohn RA, et al. Aprotinin is safe in pediatric patients undergoing cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2007;134(6):1421-6.
12. Guzzetta NA, Evans FM, Rosenberg ES, Fazlollah TM, Baker MJ, Wilson EC, et al. The impact of aprotinin on postoperative renal dysfunction in neonates undergoing cardiopulmonary bypass: a retrospective analysis. *Anesth Analg*. 2009;108(2):448-55.
13. Manrique A, Jooste EH, Kuch BA, Lichtenstein SE, Morell V, Munoz R, et al. The association of renal dysfunction and the use of aprotinin in patients undergoing congenital cardiac surgery requiring cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg*. 2009;109(1):45-52.
14. Goldstein B, Giroir B, Randolph A; International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med*. 2005;6(1):2-8.
15. Mattos SS, Neves JR, Costa MC, Hatem TP, Luna CF. An index for evaluating results in paediatric cardiac intensive care. *Cardiol Young*. 2006;16(4):369-77.
16. Arnold DM, Fergusson DA, Chan AK, Cook RJ, Fraser GA, Lim W, et al. Avoiding transfusions in children undergoing cardiac surgery: a meta-analysis of randomized trials on aprotinin. *Anesth Analg*. 2006;102(3):731-7.
17. Alcaraz AJ, Manzano L, Sancho L, Vigil MD, Esquivel F, Maroto E, et al. Different proinflammatory cytokine serum

- pattern in neonate patients undergoing open heart surgery. Relevance of IL-8. *J Clin Immunol*. 2005;25(3):238-45.
18. Seghaye MC, Duchateau J, Grabitz RG, Jablonka K, Wenzl T, Marcus C, et al. Influence of low-dose aprotinin on the inflammatory reaction due to cardiopulmonary bypass in children. *Ann Thorac Surg*. 1996;61(4):1205-11.
19. Dubois J, Jamaer L, Mees U, Pauwels J, Briers F, Lehaen J, et al. Ex vivo evaluation of a new neonatal/infant oxygenator: comparison of the Terumo CAPIOX Baby RX with Dideco Lilliput 1 and Polystan Safe Micro in the piglet model. *Perfusion*. 2004;19(5):315-21.
20. Jensen E, Andréasson S, Bengtsson A, Berggren H, Ekroth R, Lindholm L, et al. Influence of two different perfusion systems on inflammatory response in pediatric heart surgery. *Ann Thorac Surg*. 2003;75(3):919-25.
21. Chew MS, Brandslund I, Brix-Christensen V, Ravn HB, Hjørtedal VE, Pedersen J, et al. Tissue injury and the inflammatory response to pediatric cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: a descriptive study. *Anesthesiology*. 2001;94(5):745-53.
22. Mou SS, Haudek SB, Lequier L, Peña O, Leonard S, Nikaidoh H, et al. Myocardial inflammatory activation in children with congenital heart disease. *Crit Care Med*. 2002; 30(4):827-32.
23. Hövels-Gurich HH, Schumacher K, Vazquez-Jimenez JF, Qing M, Huffmeier U, Buding B, et al. Cytokine balance in infants undergoing cardiac operation. *Ann Thorac Surg*. 2002;73(2):601-8.
24. Hövels-Gurich HH, Vazquez-Jimenez JF, Silvestri A, Schumacher K, Minkenberg R, Duchateau J, et al. Production of proinflammatory cytokines and myocardial dysfunction after arterial switch operation in neonates with transposition of the great arteries. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2002;124(4):811-20.
25. Brancaccio G, Villa E, Girolami E, Michielon G, Feltri C, Mazzera E, et al. Inflammatory cytokines in pediatric cardiac surgery and variable effect of the hemofiltration process. *Perfusion*. 2005;20(5):263-8.
26. Schmartz D, Tabardel Y, Preiser JC, Barvais L, d'Hollander A, Duchateau J, et al. Does aprotinin influence the inflammatory response to cardiopulmonary bypass in patients? *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2003;125(1):184-90.
27. Carmona F. Avaliação dos fatores de risco para disfunção miocárdica e mortalidade intra-hospitalar em neonatos e lactentes submetidos a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea [Dissertação de Mestrado]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo;2006. 153p.
28. Greilich PE, Brouse CF, Whitten CW, Chi L, Dimaio JM, Jessen ME. Antifibrinolytic therapy during cardiopulmonary bypass reduces proinflammatory cytokine levels: a randomized, double-blind, placebo-controlled study of epsilon-aminocaproic acid and aprotinin. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2003;126(5):1498-503.
29. Caputo M, Bays S, Rogers CA, Pawade A, Parry AJ, Suleiman S, et al. Randomized comparison between normothermic and hypothermic cardiopulmonary bypass in pediatric open-heart surgery. *Ann Thorac Surg*. 2005;80(3):982-8.
30. Sugita T, Watarida S, Katsuyama K, Nakajima Y, Yamamoto R, Mori A. Interleukin-10 concentration in children undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1996;112(4):1127-8.
31. Tárnok A, Hamsch J, Schneider P. Cardiopulmonary bypass-induced increase of serum interleukin-10 levels in children. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1998;115(2):475-7.
32. Brown JR, Toler AW, Kramer RS, Landis RC. Anti-inflammatory effect of aprotinin: a meta-analysis. *J Extra Corpor Technol*. 2009;41(2):79-86.
33. Taniguchi T, Koido Y, Aiboshi J, Yamashita T, Suzaki S, Kurokawa A. Change in the ratio of interleukin-6 to interleukin-10 predicts a poor outcome in patients with systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med*. 1999;27(7):1262-4.
34. Williams GD, Ramamoorthy C, Pentcheva K, Boltz MG, Kamra K, Reddy VM. A randomized, controlled trial of aprotinin in neonates undergoing open-heart surgery. *Pediatr Anesth*. 2008;18(9):812-9.
35. Carrel TP, Schwanda M, Vogt PR, Turina MI. Aprotinin in pediatric cardiac operations: a benefit in complex malformations and with high-dose regimen only. *Ann Thorac Surg*. 1998;66(1):153-8.
36. Jaquiss RD, Huddleston CB, Spray TL. Use of aprotinin in pediatric lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 1995;14(2):302-7.