

## HIPERCOAGULABILIDADE APÓS NEUTRALIZAÇÃO DA HEPARINA PELO SULFATO DE PROTAMINA (\*)

### Estudo clínico e experimental

403-b.  
DR. OTONI M. GOMES (\*\*)   
DR. BERILO LANGER (\*\*)   
DR. FRANCISCO ANTONACIO (\*\*\*)   
DR. RUY V. GOMIDE DO AMARAL (\*\*\*\*)   
DR. MAGNUS R. C. DE SOUZA (\*\*\*\*\*)   
DR. E. J. ZERBINI (\*\*\*\*\*)

AP 2086  
*Foram estudadas as alterações da coagulação sanguínea, induzidas pela neutralização da heparina com o sulfato de protamina. Experimentalmente observou-se tendência para hipercoagulabilidade ocorrendo 6 horas após a injeção de protamina. Em pacientes submetidos à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea, no entanto, a administração de protamina pareceu necessária e relativamente inócua, a julgar pelos resultados dos testes de coagulação e do estudo tromboelastográfico.*

No pós-operatório geralmente ocorre tendência para hipercoagulabilidade sanguínea, propiciadora de fenômenos tromboembólicos, cuja etiologia tem sido explicada em função da liberação de substâncias tromboplásticas dos tecidos traumatizados, pelo aumento dos colóides hidrófilos e pela diminuição do fluxo sanguíneo periférico. Baille e col. (1) constataram a ocorrência de hipercoagulabilidade importante em cardiopatas submetidos a cirurgias paliativas sem circulação extracorpórea (CEC) e propuseram o emprego de heparina

(\*) Trabalho realizado no Laboratório de Coagulação da 1.ª Clínica Cirúrgica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

(\*\*) Prof.-Assistente do Departamento de Cirurgia da FMUSP.

(\*\*\*) Chefe do Banco de Sangue do Hospital das Clínicas da FMUSP.

(\*\*\*\*) Docente-Livre de Anestesiologia da FMUSP.

(\*\*\*\*\*) Médico-Assistente do Departamento de Cirurgia da FMUSP.

(\*\*\*\*\*\*) Prof. Titular de Clínica Cirúrgica — Chefe do Departamento de Cirurgia da FMUSP.

para impedir a oclusão das anastomoses vasculares realizadas. Em cirurgia cardíaca com perfusão artificial, outros fatores atuam que poderiam agravar consideravelmente essas determinantes, como a hemólise, aspiração de sangue do campo operatório, diminuição do débito cardíaco no pós-operatório e emprego de próteses valvares ou vasculares. Por essa razão, o uso de protamina, para neutralizar a heparina circulante após a perfusão é temido e já foi contestado<sup>(2,4)</sup>. Entretanto, a circulação extracorpórea artificial determina consumo de fatores de coagulação e aumento da atividade fibrinolítica que libera substâncias antitrombóticas pela degradação do fibrinogênio e fibrina. Acresce ainda a necessidade de transfusão importante de sangue estocado, geralmente carente em alguns fatores e com atividade plaquetária prejudicada. Essa tendência para hipocoagulação pode prevalecer e antagonizar os efeitos indesejáveis da neutralização da heparina pelo sulfato de protamina.

O presente trabalho descreve os resultados de estudo clínico e experimental, realizado para avaliar a influência do sulfato de protamina na gênese da hipercoagulabilidade, após neutralização da heparina, e a importância do fenômeno no pós-operatório da cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea.

#### MATERIAL E METODO

*Estudo experimental* — Foram estudados 10 cães, com pesos variáveis entre 10 e 20 kg, nos quais a veia femoral foi dissecada sob anestesia local e cateterizada, para injeção de medicamentos e colheita das amostras de sangue.

Em todas as amostras (representadas pela letra t), o sangue retirado foi anticoagulado pela adição de citrato de sódio, na proporção de 1:10.

Após obtenção da primeira amostra ( $t_1$  — controle), os animais receberam dose de heparina correspondente a 3 mg/kg, seguida, 5 minutos depois, da administração de dose idêntica de sulfato de protamina. Passados 5 minutos desta injeção, nova amostra sanguínea foi colhida ( $t_2$ ), administrada outra dose de protamina (3 mg/kg) e após mais 5 minutos retirada a terceira amostra ( $t_3$ ). As amostras  $t_4$ ,  $t_5$  e  $t_6$  foram colhidas 2,4 e 6 horas após a injeção de segunda dose de protamina, respectivamente. Em todas as amostras foram realizadas os seguintes testes: tempo de recalcificação do sangue, tempo de trombina<sup>(8)</sup> e tempo de tromboplastina parcial<sup>(14)</sup>.

## ESTUDO CLINICO

Foi realizado em 10 pacientes submetidos à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea, no Instituto do Coração da FMUSP.

O Quadro I apresenta os dados gerais e os diagnósticos referentes aos doentes estudados.

QUADRO I  
DADOS GERAIS E DIAGNÓSTICOS REFERENTES AOS  
PACIENTES ESTUDADOS

Caso n.º	Nome	Idade (anos)	Peso (kg)	T. de perfusão (min)	Diagnóstico
1	N.F.	50	52,0	115'	Dupla lesão mitral e aórtica
2	T.F.	4	15,0	75	Tetralogia de Fallot
3	A.J.	59	56,0	19	Estenose mitral
4	D.B.S.	36	69,0	43	Insuficiência coronária
5	A.F.	50	86,0	140	Insuficiência coronária
6	N.A.	62	83,5	73	Estenose aórtica
7	V.F.C.	44	57,0	71	Dupla lesão mitral
8	A.P.	57	60,0	75	Insuficiência coronária
9	M.A.O.	35	53,0	58	Insuficiência aórtica
10	N.T.	29	48,0	35	Estenose mitral
Média		42,6	58,0	70,4	

A anestesia foi induzida com tiopental sódico a 2,5%, por via venosa. Após ventilação pulmonar com oxigênio puro, obteve-se relaxamento muscular pelo emprego de succinilcolina a 1%, na dose de 1,5 mg/kg de peso corpóreo, por via venosa e procedeu-se a entubação orotraqueal, estabelecendo-se em seguida respiração controlada com o respirador de Takakaoka<sup>(16)</sup>. A manutenção de anestesia foi feita com halotano.

A circulação extracorpórea foi realizada com aparelho Coração-Pulmão Artificial, modelo Instituto do Coração da FMUSP, equipado com o oxigenador de bolhas de coluna variável,<sup>(6)</sup>. As perfusões foram realizadas em normotermia, sendo o volume extracorpóreo ("V.E." — "priming-volume") composto da seguinte forma: sangue homólogo — 700 a 1000 ml; manitol a 20% — 0,5 g/kg; gluconato de cálcio a 10% — 1,0 ml/100 ml de sangue; heparina — 30 mg/500

ml de sangue; bicarbonato de sódio a 10% — 5,0 ml/500 ml de sangue; lincomicina (Frademicina) 0,5 a 1,0 g.

A anticoagulação foi determinada, em todos os casos, pela injeção de heparina em dose inicial correspondente a 4,0 mg/kg de peso corpóreo e parcialmente repetida (1,0 mg/kg) cada 35 minutos após a primeira dose. No final da perfusão o restabelecimento da coagulação foi feito pela injeção de sulfato de protamina em dose correspondente (1:1) ao total de heparina administrada, complementada, 5 minutos após, por outra dose semelhante (1:1).

Para estudo das alterações da coagulação, as amostras de sangue foram colhidas nos seguintes tempos:  $t_1$  — antes do início da anestesia;  $t_2$  — no final da perfusão, 5 minutos após administração do sulfato de protamina em dose correspondente a 1:1 do total de heparina dada;  $t_3$  — 5 minutos após nova dose de protamina igual a anterior;  $t_4$  —  $t_5$  e  $t_6$ , respectivamente, 2,4 e 6 horas após a segunda dose de protamina.

Em todas as amostras de sangue foram realizados os seguintes tempos: Tempo de Recalcificação, Tempo de Protrombina (<sup>13</sup>), Tempo de Trombina, Tempo de Tromboplastina Parcial, Determinação do Fibrinogênio (<sup>5</sup>), Contagem de Plaquetas (<sup>2</sup>) e Estudo Tromboelastográfico (<sup>9</sup>) com aparelho modelo Hellige.

## RESULTADOS

O Quadro II apresenta os resultados do estudo experimental, notando-se, principalmente, que o tempo de recalcificação do sangue declinou de 78 seg., em  $t_1$ , para 60,0 seg., em  $t_6$ . O tempo de trombina diminuiu de 13 para 10 seg. e o de Tromboplastina parcial de 30 para 28 seg., nos mesmos períodos respectivamente.

### QUADRO II

ALTERAÇÕES DA COAGULAÇÃO APÓS NEUTRALIZAÇÃO DA HEPARINA PELO SULFATO DE PROTAMINA — RESULTADOS EM MÉDIA — ESTUDO EXPERIMENTAL

TESTES	A M O S T R A S					
	$t_1$	$t_2$	$t_3$	$t_4$	$t_5$	$t_6$
* T. Recalcificação do sangue	78,0	122,0	116,0	100,0	88,0	60,0
* T. Trombina	13,0	13,0	12,0	11,0	11,0	10,0
* T. Tromboplastina parcial	30,0	42,0	38,0	35,0	37,0	28,0

\* Em segundos.



Os resultados das determinações laboratoriais, realizadas nos doentes submetidos a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea, constam do Quadro III.

Os resultados do controle tromboelastográfico são apresentados no Quadro IV, sendo que a fig. 1 mostra a seqüência de curvas referentes ao 4.º paciente estudado.

QUADRO III  
ESTUDO CLÍNICO — MÉDIAS DOS RESULTADOS DOS TESTES  
DE COAGULAÇÃO

TESTES	PERÍODOS					
	t <sub>1</sub>	t <sub>2</sub>	t <sub>3</sub>	t <sub>4</sub>	t <sub>5</sub>	t <sub>6</sub>
T. de Recalcificação (seg.)	146,5	237,5	175,0	146,0	145,5	153,6
T. de Protrombina (seg.)	18,4	35,8	27,0	23,0	22,8	22,3
T. de Trombina (seg.)	26,2	61,0	34,6	32,8	31,1	28,2
T. T. Parcial (seg.)	60,8	137,7	100,8	67,2	70,3	68,7
Fibrinogênio (mg%)	298	271	265	253	283	286
Plaquetas (1000/mm <sup>3</sup> )	246,0	210,5	195,5	211,4	216,6	220,5

t<sub>1</sub> — antes da heparinização

t<sub>2</sub> — 5' após administração de protamina 1:1

t<sub>3</sub> — 5' após administração de nova dose de protamina 1:1

t<sub>4</sub>, t<sub>5</sub> e t<sub>6</sub> — 2, 4 e 6 horas após t<sub>3</sub>, respectivamente.

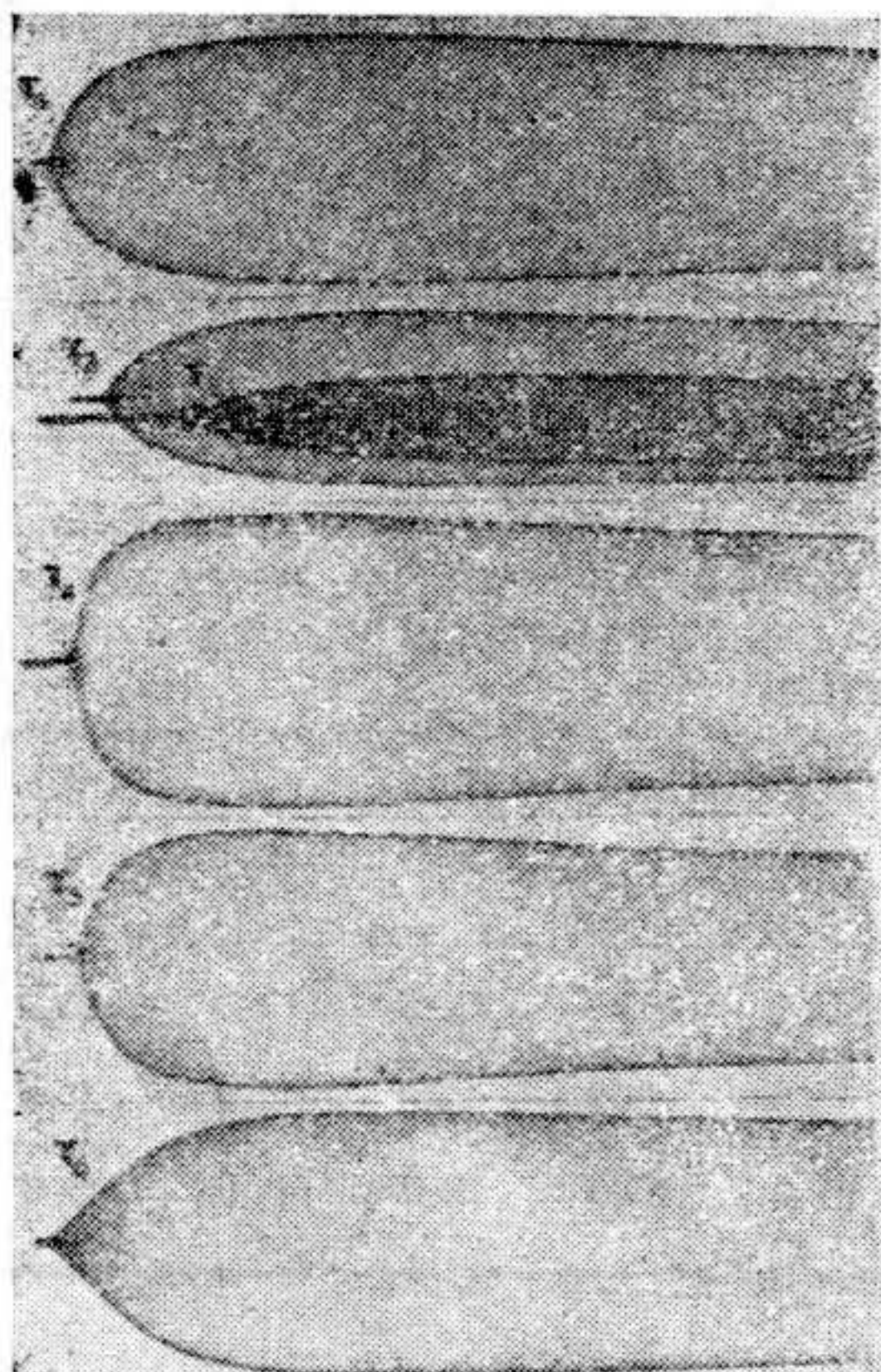


FIGURA 1

Tromboelastogramas — Observação n.º 4

QUADRO IV

ALTERAÇÕES DA COAGULAÇÃO APÓS CEC — ESTUDO TROMBOELASTOGRÁFICO

OBSERVAÇÃO N.º	TROMBOELASTOGRAMA																	
	r*						k*						am*					
	t <sub>1</sub>	t <sub>2</sub>	t <sub>3</sub>	t <sub>4</sub>	t <sub>5</sub>	t <sub>6</sub>	t <sub>1</sub>	t <sub>2</sub>	t <sub>3</sub>	t <sub>4</sub>	t <sub>5</sub>	t <sub>6</sub>	t <sub>1</sub>	t <sub>2</sub>	t <sub>3</sub>	t <sub>4</sub>	t <sub>5</sub>	t <sub>6</sub>
1	4	10	9	5	6	4	5	16	10	5	7	6	74	40	60	71	61	78
2	4	5	4	4	4	3	40	64	100	5	5	20	36	18	34	50	65	47
3	4	14	10	7	6	5	3	20	11	8	10	6	76	60	70	73	63	75
4	6	28	10	13	10	5	8	90	16	6	8	18	55	20	38	65	58	58
5	10	14	10	6	16	6	14	12	10	13	12	10	40	38	44	40	40	60
6	10	10	9	10	7	6	12	12	10	12	6	10	52	50	58	45	56	65
7	10	30	22	20	19	9	50	230	180	80	110	80	30	30	30	45	35	50
8	12	35	8	6	8	6	50	100	70	12	10	12	55	20	40	55	50	60
9	11	14	11	20	15	14	20	92	35	11	15	14	75	52	52	53	40	51
10	4	8	8	5	5	6	17	40	20	20	16	24	54	42	55	58	56	55
MÉDIA	7,5	16,0	10,1	9,6	9,6	6,4	21,9	67,6	46,2	17,2	19,9	20,0	54,7	37,0	48,1	55,5	52,4	59,4

\* — em mm

## DISCUSSÃO

Em condições normais, após supressão da terapêutica anticoagulante, o organismo responde com tendência para hipercoagulabilidade. No pós-operatório da cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea, tal inconveniente poderia ser agravado pelos agentes tromboplásticos liberados com a fragmentação de hemácias e plaquetas, razão pela qual os doentes deveriam ser mantidos em estado de discreta hipocoagulação induzida por anticoagulantes. Essa impressão é corroborada pela tendência à diminuição do fluxo capilar, devida ao aparecimento, relativamente freqüente nesses pacientes, de insuficiência cardíaca transitória. Acrescem ainda os efeitos indesejáveis resultantes da administração do sulfato de protamina, como trombocitopenia, diminuição do fator VIII, ativação fibrinolítica e depressão cardiovascular<sup>(10,11,12)</sup>. A soma desses fatores justifica o receio da neutralização da heparina pelo sulfato de protamina e reforça a opinião dos autores que proscvem ou reduzem a administração da protamina<sup>(2,4)</sup>.

Em trabalho anterior<sup>(6)</sup> demonstrou-se que a velocidade de inativação da heparina durante a perfusão é tão intensa que 30-40 min. após a primeira dose sua atividade acha-se reduzida a 50% da inicial. Assim sendo, empregando-se dose única de heparina, em alguns casos a neutralização poderia ser desnecessária. Contudo, os danos da heparinização deficiente resultam maiores que os de emprego da protamina, conforme aprendido de observações anteriores<sup>(15)</sup>.

Por outro lado, os doentes submetidos à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea ou já apresentam défices importantes de fatores da coagulação, como os congênitos cianóticos, ou adquiriram o problema pela perfusão artificial, que determina redução do número de plaquetas, da taxa de fibrinogênio e de fatores do complexo protrombínico, além de ativar o sistema fibrinolítico e conseqüente formação de antitrombina, predispondo a estados graves de hipocoagulação.

Na presente investigação pode-se observar que os cães estudados realmente mostraram tendências para hipercoagulação, 6 horas após a segunda dose de protamina, quando ocorreu diminuição dos tempos de recalcificação do sangue, trombina e tromboplastina parcial. Nos pacientes, entretanto, 6 horas após a última dose de protamina os diversos testes realizados apresentam resultado muito semelhantes aos respectivos valores iniciais, persistindo inclusive aumento considerável do tempo de protrombina.

A segunda dose de protamina (para completar 2:1) pareceu muito necessária, tendo modificado o tempo de trom-



bina de 61,0 (após protamina 1:1) para 34,6 segundos, sendo considerada normal a média de 26,2 segundos (correspondente ao controle).

A influência da protamina nas plaquetas pode ser vista como pouco importante, por declinar sua concentração média apenas de 210.800 para 195.500/mm<sup>3</sup>, de  $t_2$  para  $t_3$ , respectivamente, notando-se recuperação deste déficit já em  $t_4$  (211.400mm<sup>3</sup> — 2 horas após  $t_3$ ). O estudo tromboelastográfico confirma os resultados dos demais exames, notando-se valores médios elevados de r e k (16,0 e 67,6 mm, respectivamente) após a primeira dose de protamina, que declinaram progressivamente a partir de  $t_3$  (segunda dose de protamina) mas sem mostrar índices compatíveis com diagnóstico de hipercoagulabilidade, mesmo em  $t_6$ ; a variação média da amplitude máxima (am) correlaciona-se com a do número de plaquetas, que diminuindo em  $t_2$  e  $t_3$  aumenta progressivamente até  $t_6$ , evidenciando melhoria do coágulo e, portanto, da função plaquetária.

Os dados apresentados atestam a necessidade e inocuidade do uso adequado do sulfato de protamina após a perfusão artificial, fato corroborado pela experiência clínica que tem no fenômeno de para-heparinização ("heparin-rebound") importante causa de hemorragia no pós-operatório da cirurgia cardíaca.

Respeitado o critério de heparinização adotado nos pacientes estudados (dose inicial de 4 mg/kg e manutenção com 1 mg/kg de 35/35 min.) a dose de sulfato de protamina correspondente a 2:1 do total de heparina usada mostra-se necessária e eficiente.

Em nossa instituição, pacientes que receberam adequada anticoagulação durante a perfusão e foram deixados sem neutralização da heparina apresentaram sangramento perigoso no pós-operatório, que cessavam pela administração do sulfato de protamina, em dose estabelecida por titulação da heparina circulante.

No pós-operatório imediato, a anticoagulação induzida potencializa os distúrbios da coagulação determinados pela circulação extracorpórea. Seu emprego deve ser restrito aos raros casos de comprovada tendência para hipercoagulação.

#### SUMMARY

##### HIPERCOAGULABILITY AFTER HEPARIN NEUTRALIZATION BY PROTAMINE SULPHATE — CLINICAL AND EXPERIMENTAL STUDY

Blood coagulation disturbances, induced by heparin neutralization with protamine sulphate were studied. Tendency for hipercoagulability occurring 6 hours after injection of protamine was observed. In patients submitted to cardiac surgery



with extracorporeal circulation, otherwise, protamine administration seemed necessary and relatively innocuous, as judged by the results of blood coagulation tests and of the thromboelastographic study.

### REFERÊNCIAS

1. Baille Y, Monties J R, Goudard A, Blanc Th, Jaquenoud P & Henry E — Le traitement par l'heparine des hemorrhagies per et post-opératoires en chirurgie cardiaque. A propos de 121 observations. *Ann Chir Thor Car* 9:79, 1970.
2. Berger R L, Ramaswany K & Ryan T C — Reduced protamine dosage for heparin neutralization in open-heart operations. *Circulation*, 37:154, 1968.
3. Brecher G, Schneiderman M & Cronkite E P — The reproducibility and constancy of the platelet count. *Am J Clin Path* 23:15, 1953.
4. Castañeda A R — Must heparin be neutralized following open-heart operations? *J Thorac Cardiac Surg* 52:716, 1966.
5. Foster D P, Whipple G H — Blood fibrin studies. I — An accurate method for the quantitative analysis of blood fibrin in small amounts of blood. *Amer J Physiol* 58:365, 1922.
6. Gomes O M — Oxigenador de bolhas de coluna variável. Tese — Fac Med Univ São Paulo, São Paulo, 1971.
7. Gomes O M, Langer B, Wolosker M, Bittencourt D & Zerbini E J — Controle da atividade da heparina pela titulação com o sulfato de protamina em função do tempo de recalcificação do sangue. *Arq Bras Cardiol* 25:151, 1972.
8. Harrington W J, Manheimer R J, Desforger J R, Minke H P, Crown C B & Stholman F — The bleeding tendency in hepatocellular and obstructive jaundice. *Bull New England Med Center* 12:121, 1950.
9. Harter H — Blutgerinnungsstudien mit thromboelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren. *Klin Wchn schr* 26:577, 1948.
10. Japelli A — Sull'azione fisiologica de un solfato di protamina. *Boll Soc Hal Biol sper* 8:778, 1933.
11. Kaulla K N — Intravenous protein-free pyrogen. A powerful fibrinolytic agent in man. *Circulation* 17:187, 1958.
12. Ollendorff P — The nature of the anticoagulant effect of heparin, protamine, polybrene and toluidine blue. *Scand J Clin Lab Invest* 14:267, 1962.
13. Quick A J — *The Physiology and Pathology of Hemostasis*. Lea & Febiger, Philadelphia, 1951.
14. Rodman N F Jr, Barrow E M & Graham J B — Diagnosis and control of hemophiloid states with the partial thromboplastin time test (PTT). *Am J Clin Path* 29:525, 1958.
15. Senning A — Plasma heparin concentration in extracorporeal circulation. *Acta Chir Scand* 177:55, 1959.
16. Takaoka K — Respirador automático de Takaoka. *Rev Bras Anest* 14:380, 1964.