

# Óxido Nítrico: Propriedades Protetoras das Plaquetas Durante a Circulação Extracorpórea/ECMO.

Julie Jacobson, BSN, RN

Johns Hopkins Hospital and Health Systems, Maryland, USA. Originalmente publicado em J Extracorp Technol 34:144-147, 2002

Tradução: Maria Helena L. Souza & Decio O. Elias

## ABSTRACT

Postoperative bleeding is a major complication in patients who have been placed on extracorporeal circulatory support for various cardiac procedures (1). The increase in hemorrhage is well documented and is associated with various factors, which include, high-dose systemic heparinization, thrombocytopenia, and impaired platelet function. Platelets activate when exposed to the large foreign surface of the extracorporeal circuit, with the largest area being the oxygenator. Despite adequate heparinization, platelet levels continue to decrease. This aggregation phenomenon has also been extensively studied, and it cannot be attributed to the use of aminocaproic acid, aprotinin, propofol, or amicar (2). Other factors found to be unrelated include, the brand or type of oxygenator, the use of heparin coatings (3), activated clotting time (ACT) levels while on bypass, the operative procedure, preoperative medications, or the types of anesthetic agents used (2). Therefore, it may be beneficial to add nitric oxide to the sweep gas to decrease platelet loss, platelet damage, postoperative bleeding, and lessening the need for postoperative blood transfusions.

Keywords: cardiopulmonary bypass, ECMO, nitric oxide, platelets, post-op hemorrhage.

## RESUMEN

O sangramento pós-operatório é uma complicação importante nos pacientes submetidos a uma forma de suporte circulatório extracorpóreo para diversos procedimentos cardíacos [1]. O aumento da hemorragia esta bem documentado e é associado a vários fatores que incluem a heparinização sistêmica com doses elevadas, a trombocitopenia e a deficiente função plaquetária. As plaquetas são ativadas quando expostas às grandes superfícies estranhas do circuito extracorpóreo das quais a maior é o oxigenador. Apesar da heparinização adequada os níveis das plaquetas continuam a reduzir. Esse fenômeno de agregação também foi extensivamente estudado e não pode ser atribuído ao uso do ácido aminocaproico, da aprotinina, do propofol ou do amicar [2]. Outros fatores apontados como não relacionados a inativação plaquetária incluem a marca e o tipo do oxigenador, o emprego de revestimento com heparina, os níveis de tempo de coagulação ativado (TCA) durante a perfusão, o procedimento operatório, a medicação pré-operatória ou os tipos de agentes anestésicos utilizados [3]. Desse modo, pode ser benéfico adicionar óxido nítrico ao gás que ventila o oxigenador para diminuir a perda e a injúria de plaquetas, o sangramento pós-operatório e minimizar a necessidade de transfusões de sangue no período pós-operatório.

Palavras chaves: circulação extracorpórea, ECMO, óxido nítrico, plaquetas, hemorragia pós-operatória.

*Rev Latinoamer Technol Extracorp X111,1,2006*

As plaquetas, também conhecidas como trombócitos, são fragmentos celulares importantes na hemostasia e na coagulação do sangue. As plaquetas são produzidas pela fragmentação dos megacariócitos derivados de uma célula tronco primitiva introduzida na medula óssea. As plaquetas se incluem na categoria dos elementos formados do sangue; os outros elementos formados são os glóbulos vermelhos e os glóbulos brancos. Esses elementos formados constituem 45% do volume sanguíneo total. Os 55% restantes consistem de plasma [4]. As plaquetas são fragmentos de contornos irregulares, com dois a quatro microns de diâmetro, cuja vida média é de sete a dez dias [4]. A contagem normal de plaquetas dos adultos varia de 150.000 a 35.000/mm<sup>3</sup>. As propriedades físicas das plaquetas desempenham um papel essencial na cascata da coagulação. Essas propriedades consistem em agregação, aglutinação e adesão [4]. Para que a coagulação ocorra normalmente é necessário que as plaquetas estejam presentes em quantidades adequadas e com funções normais. Quan-

do ocorre uma lesão no endotélio as plaquetas aderem a parede vascular, iniciam o processo de agregação que progride até a formação de um tampão plaquetário [4]. Essa mesma reação ocorre quando as plaquetas são expostas à superfícies estranhas (como é o caso da circulação extracorpórea). As plaquetas em condições normais circulam livremente no plasma porém, quando em contato com o endotélio lesado ou uma superfície estranha, tornam-se ativadas. Quando as plaquetas soa ativadas ocorrem alterações drásticas na sua morfologia. Antes da ativação as plaquetas são fragmentos lisos e irregulares que não contém um núcleo. Uma vez ativadas, seja por lesão endotelial ou pelo contato com superfícies não endoteliais elas se transformam e liberam agentes bioquímicos potentes (como o tromboxano A2) que acentuam a agregação plaquetária. O tampão plaquetário se estabiliza pela ativação da trombina e a fibrina [4]. As plaquetas aderem fortemente umas às outras assim que o sangue é removido dos vasos e também aderem a qualquer superfície com que en-

trem em contato. Estes fatores nos ajudam a entender a razão pela qual, grandes quantidades de plaquetas são consumidas nos oxigenadores. O excesso de ativação plaquetária que ocorre no oxigenador reduz significativamente as plaquetas circulantes disponíveis para promover a coagulação adequada no paciente [5].

O consumo de plaquetas nos oxigenadores de membranas planas e de membranas capilares no circuito da circulação extracorpórea é um fenômeno bem conhecido e amplamente documentado na literatura [2,6,7]. Apesar do uso combinado da heparina, protamina e aprotinina durante a oxigenação por membrana extracorpórea (ECMO) ou durante a circulação extracorpórea, as hemorragias ainda constituem uma das principais complicações pós-operatórias e pós-ECMO [8,9,10]. Essa hemorragia excessiva é atribuída ao aumento do consumo de plaquetas, como mencionado anteriormente, e à sua função comprometida pelo contato com as grandes superfícies artificiais dos circuitos [2,6,11]. As plaquetas se ativam ao contato com estas superfícies. Formam-se coágulos e esta cadeia de eventos resulta em complicações microembólicas que podem produzir injúria hepática, renal e pulmonar, além do aumento das perdas sanguíneas [6,12]. Com o tempo, a agregação plaquetária no oxigenador, se excessiva, causará alterações do fluxo sanguíneo através do oxigenador e pode comprometer as trocas gasosas no aparelho [2]. Quando examinamos especificamente a circulação extracorpórea vemos que a rápida redução das plaquetas circulantes é maior do que o esperado pelo efeito isolado da hemodiluição [5]. Juntamente com a ativação das plaquetas pelo contato, a combinação da redução numérica e perda da função pode ser responsável pela maior parte das perdas sanguíneas imediatamente após a perfusão [13]. O consumo das plaquetas e a sua disfunção especificamente no ECMO podem ser atribuídos ao contato com os circuitos, ao estresse oxidativo, às elevadas tensões de oxigênio e à exaustão plaquetária [14]. Apesar do uso da heparina, protamina e amicar, os pacientes continuam a apresentar complicações hemorrágicas [14]. A maioria dos centros de ECMO utilizam práticas que incluem a manutenção das plaquetas acima de  $100.000/\text{mm}^3$  e um TCA entre 190-210 segundos, como prevenção de complicações hemorrágicas [14]. Um estudo realizado por Cheung e colaboradores, no Canadá, investigou especificamente a função plaquetária e as complicações hemorrágicas durante o ECMO conduzido com os protocolos acima descritos. Um dos pacientes desse estudo foi um neonato de 37 semanas de gestação e 2.200 gramas de peso, com o diagnóstico de hérnia diafragmática congênita que apresentou hemorragia interventricular (cérebro) doze horas após o início do ECMO; a contagem de plaquetas era de  $93.000$  e o TCA era de 200 segundos. Esse exemplo isolado demonstra não apenas a teoria da perda de plaquetas durante o ECMO mas também a ocorrência da disfunção plaquetária. Este paciente tinha um número adequado de plaquetas mas a fun-

ção delas estava deprimida [14].

Até 1987 o óxido nítrico (NO) era visto principalmente como um gás tóxico encontrado na neblina, na fumaça dos cigarros e na descarga dos automóveis. No final de 1987, o óxido nítrico foi identificado como um fator relaxante derivado do endotélio [15]. O óxido nítrico hoje é conhecido não apenas como um vasodilatador mas, também como um gás que desempenha importante papel no relaxamento dos músculos lisos, na inibição plaquetária, na remoção de radicais livres, na lise de células tumorais, na liberação de hormônios e na função imunitária [16]. O óxido nítrico é um gás incolor e moderadamente solúvel em água; sua molécula é pequena tem um elétron não pareado e é um radical livre extremamente reativo. O óxido nítrico é solúvel nas gorduras, o que permite que atravesse as membranas celulares rapidamente. In vivo, o NO tem uma meia vida de 0,1-5 segundos. O óxido nítrico foi usado inicialmente para tratar a hipertensão pulmonar em 1990 e a síndrome respiratória do adulto, em 1993 [15,17]. O NO ainda é amplamente usado no tratamento da hipertensão pulmonar, na doença respiratória do adulto, no transplante cardíaco e pulmonar, na hérnia diafragmática congênita, na hipertensão pulmonar persistente do recém-nato, no edema pulmonar das grandes altitudes e em doenças pulmonares crônicas [15]. O NO endógeno é formado na célula endotelial e o seu precursor é a L-arginina [16]; atua sobre muitas proteínas e é conhecido como ativador da cicloguanilato solúvel para produzir o monofosfato cíclico 3,5 de guanosina (cGMP). É esse composto (cGMP) que modera o relaxamento da musculatura lisa e inibe a agregação plaquetária [15]. Todos os nitrovasodilatadores, incluindo a nitroglicerina e o nitroprussiato, produzem vasodilatação através da produção de óxido nítrico [15]. Os seres humanos expiram cerca de 6 partes por bilhão de óxido nítrico em repouso e mais ainda, durante o exercício [15,19,20]. A origem exata desse NO não é conhecida mas, há evidências que demonstram que esse NO tem origem nas vias aéreas inferiores [21]. A produção anormalmente elevada ou reduzida de NO no organismo pode produzir consequências adversas para o paciente. A redução da produção do NO endógeno pode resultar no desenvolvimento de hipertensão pulmonar, aterosclerosis, espasmo vascular ou angina [22]. Níveis elevados de NO endógenos estão associados ao desenvolvimento de artrite reumatóide, hipotensão e vasodilatação acentuada. A eliminação do NO ocorre pelas vias pulmonar e renal; a via renal, contudo, elimina a maior parte dessa substância. O NO é metabolizado nas hemácias onde é convertido em nitratos e metahemoglobina. Os nitratos alcançam o plasma e são excretados pelos rins [23].

O NO endógeno tem um efeito vasodilatador nas duas circulações, a sistêmica e a pulmonar; em contraste, o NO inalado apenas dilata a musculatura lisa pulmonar. Qualquer NO difundido para o sangue é rapidamente inativado

pela hemoglobina, formando metahemoglobina [23]. Essa conversão impede um efeito vasodilatador sistêmico [24,25]. Entretanto, a formação excessiva de metahemoglobina pode comprometer seriamente a capacidade de transporte de oxigênio no sangue [26]. Os níveis máximos de segurança de metahemoglobina no sangue são de apenas 3% da hemoglobina total [26]. Em um estudo de Rimar e Gillis [21] demonstrou-se a limitação da vasodilatação da vasculatura pulmonar pela inativação do NO produzida pela hemoglobina.

Recentes pesquisas demonstraram propriedades protetoras do NO sobre as plaquetas. Os pesquisadores tem examinado dois métodos para adicionar o NO aos circuitos do ECMO e da CEC. Esses dois métodos incluem a mistura do NO ao gás instilado no oxigenador [6,7,11], e revestir os circuitos com polímeros capazes de liberar óxido nítrico [16].

O NO foi demonstrado ser um potente inibidor da ativação plaquetária induzida pelas superfícies estranhas e, por ser um gás, pode ser facilmente administrado em mistura com o gás que ventilamos os circuitos do ECMO e da CEC [25]. Comparado com outras modalidades de proteção plaquetária durante a perfusão, como o uso de circuitos heparinizados ou a administração de aprotinina, o NO pode ser mais vantajoso. Em primeiro lugar, o NO pode ser facilmente administrado ao compartimento de gás do oxigenador. Além disso, a ação do NO é restrita a interface do sangue com o gás em virtude da sua curta meia vida [27] e da facilidade com que se liga a hemoglobina. Finalmente, a administração do NO pode ser facilmente iniciada ou terminada quando desejado. Dentre 9 estudos com o NO misturado ao gás do oxigenador, as concentrações variaram entre 15-200 ppm e a duração da perfusão variou de 4 a 24 horas. Todos estes estudos mostraram uma contagem de plaquetas circulantes significativamente mais alta do que nos circuitos de controle [27]. Em um estudo de Keh [26], em que 20 ppm de NO foram usados, a proteção das plaquetas aumentou com a duração da perfusão. Nesse estudo, após 270 minutos de perfusão, as plaquetas nos circuitos com NO estavam em 96% da contagem pré-bypass comparadas com 82% nos circuitos controle. Também foi notado em outro estudo [7] que os circuitos com o NO não apenas inibiram a adesão e a agregação plaquetárias às superfícies estranhas mas, também preservaram as funções das plaquetas. Em outro estudo [12] o oxigenador foi examinado após a perfusão para detectar adesão plaquetária. As membranas foram examinadas após a infusão de 500 ppm e demonstraram a adesão ao oxigenador, de apenas 4% do total de plaquetas; esse dado se acompanhou de maior número de plaquetas circulantes [12].

Mellgren e colaboradores [11] usaram estudos in vitro para demonstrar a eficácia do NO na proteção do número e da função das plaquetas e aplicaram seus dados a estudos

em humanos, com 20 pacientes submetidos a revascularização do miocárdio dos quais metade recebeu 40 ppm de NO no oxigenador e os demais serviram de controle. O tempo médio de CEC foi de 73 minutos e todos os pacientes eram de baixo risco. O estudo mostrou menor consumo de plaquetas no grupo que recebeu NO mas as diferenças não foram estatisticamente significativas. Apesar disso, o autor sugere que a adição do NO ao gás do oxigenador tem efeito protetor sobre as plaquetas. Um segundo estudo clínico de Lowson [27] demonstrou resultados semelhantes em um grupo de 47 pacientes de baixo risco com a dose de 100 ppm durante a perfusão.

## CONCLUSÃO

Os estudos que avaliam o óxido nítrico demonstraram benefícios em relação as plaquetas nas diversas situações em que a circulação extracorpórea é utilizada. Embora os primeiros ensaios clínicos não tenham alcançado significados estatísticos, serviram para direcionar futuros estudos. Estes, podem ser dirigidos ao tempo de perfusão e ao emprego de diferentes doses de NO no oxigenador. O efeito protetor do óxido nítrico sobre as plaquetas aumenta com a duração da perfusão. Este benefício pode ser essencial durante o manuseio dos pacientes em ECMO, cujos tempos de perfusão são nitidamente maiores do que a duração da CEC para a revascularização do miocárdio.

## REFERÊNCIAS

1. McCusker K, Lee S. Post-cardiopulmonary bypass bleeding: An introductory review. *Journal of ExtraCorporeal Technology*. 1999; 31:24-36.
2. Schaadt J. Oxygenator thrombosis: An international phenomenon. *Perfusion*. 1999;14:425-35.
3. Mahoney CB, Lemole GM. Transfusion after coronary artery bypass surgery: The impact of heparin-bonded circuits. *Euro J Cardiothorac Surg*. 1999;16:206-10.
4. Thibodeau GA, Patton KT. Blood. In: Thibodeau and Patton, editors. *Anatomy & Physiology*. St. Louis: Mosby, 1996;587-600.
5. Rinder CS. Hematologic effects of cardiopulmonary bypass. In: Gravlee GP, Davis RF, Kurusz M, Utley JR, eds. *Cardiopulmonary Bypass, Principles and Practice*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000;492-503.
6. Konishi R, Shimizu R, Firestone L, et al. Nitric oxide prevents human platelet adhesion to fiber membranes in whole blood. *ASAIO*. 1996;42:850-3.
7. Keh D, Gerlach I, Kurer KJ, Falke H, Gerlach H. Reduction of platelet trapping in membrane oxygenators by trans membranous application of gaseous nitric oxide. *Int J Artif Organs*. 1996;19:291-3.
8. George TN, Johnson KJ, Bates JN, Segar JL. The effect

- of inhaled nitric oxide therapy on bleeding time and platelet aggregation in neonates. *J Pediatr*. 1998;132:731-4.
9. Peek GJ, Firmin RK. The inflammatory and coagulative response to prolonged extracorporeal membrane oxygenation. *ASAIO*. 1999; 45:250-63.
10. Cheung PY. Nitric oxide and platelet function: Implications for neonatology. *Seminars Perinatol*. 1997;21:409-17.
11. Mellgren K, Mellgren G, Lundin S, Wennmalm A, Wadenvik H. Effect of nitric oxide gas on platelets during open-heart operations. *Ann Thorac Surg*. 1998;65:1335-41.
12. Sly KM, Prager MD, Li J, et al. Platelet and neutrophil distributions in pump oxygenator circuits: Influence of nitric oxide gas infusion. *ASAIO*. 1996;42:494-9.
13. Urlesberger B, Zobel G, Zens W, et al. Activation of the clotting system during extracorporeal membrane oxygenation in term newborn infants. *J Pediatr*. 1996;129:264-8.
14. Cheung PY, Sawicki G, Salas E, Etches PC, Schultz R., Radomski, MW. The mechanisms of platelet dysfunction during extracorporeal membrane oxygenation in critically ill neonates. *Crit Care Med*. 2000;28:2584-90.
15. Aranda, M, Pearl, RG. The pharmacology and physiology of nitric oxide. *Anesthesiol Clin N Amer*. 1998;16:235-57.
16. Annich GM, Meinhardt JP, Mowery KA, et al. Reduced platelet activation and thrombosis in extracorporeal circuits coated with nitric oxide release polymers. *Critic Care Med*. 2000;28:915-21.
17. Malmros C, Blomquist S, Dahm P, Martensson L, Thorne J. Nitric oxide inhalation decreases pulmonary platelet and neutrophil sequestration during extracorporeal circulation in the pig. *Crit Care Med*. 1996;24:845-51.
18. Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, et al. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet*. 1994;343:133.
19. Haddad E, Lowson SM, Johns RA, Rich GF. Use of inhaled nitric oxide perioperatively and in intensive care patients. *Anesthesiology*. 2000;92:1821-5.
20. Davies G, Fulton J, Hagen PO. Clinical biology of nitric oxide. *Brit J Surg*. 1995;82:1598-610.
21. Rimar S, Gillis CN. Selective pulmonary vasodilation by inhaled nitric oxide is due to hemoglobin inactivation. *Circulation*. 1993;88: 2884-7.
22. Mizutani T, Joseph LA. Clinical applications of nitric oxide. *Chest*. 1996;110:506-24.
23. Sly K, Prager MD, Eberhart RC, Jessen ME, Kulkarni PV. Inhibition of surface-induced platelet activation by nitric oxide. *ASAIO*. 1995; 41:394-8.
24. Tzeng E, Billiar TR. Nitric oxide and the surgical patient: Identifying therapeutic targets. *Arch Surg*. 1997;132:977-82.
25. Keh D, Gerlach M, Kurer S, et al. Nitric oxide diffusion across membrane lungs protects platelets during simulated extracorporeal circulation. *Euro J Clin Invest*. 1999;29:344-50.
26. Lowson S, Hassan M, Rich G. The effect of nitric oxide on platelets when delivered to the cardiopulmonary bypass circuit. *Anesth Analges*. 1999;89:1360-8.
27. Massimo C, Mastroberto P, Marchese A, et al. Nitric oxide inhibits neutrophil adhesion during experimental extracorporeal circulation. *Anesthesiology*. 1998;89:443-8.