

# Caratterizzazione dell'attivazione infiammatoria e fibrinolitica dopo intervento di bypass aortocoronarico in circolazione extracorporea

Mario Gaudino, Giuseppe Nasso, Roberto Zamparelli, Felicita Andreotti, Francesco Burzotta, Licia Iacoviello\*, Filippo Santarelli, Elisabetta Lapenna, Piergiorgio Bruno, Fabrizio Di Pietrantonio, Rocco Schiavello, Attilio Maseri, Gianfederico Possati

Dipartimento di Medicina Cardiovascolare, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, \*Istituto di Ricerche Farmacologiche, Consorzio Mario Negri Sud, S. Maria Imbaro (CH)

## Key words:

Coronary artery bypass graft; Extracorporeal circulation; Fibrinolysis; Interleukin-6.

**Background.** The aim of this study was to determine the course of the main inflammatory and fibrinolytic markers in patients undergoing primary elective coronary artery bypass graft with extracorporeal circulation.

**Methods.** One hundred and thirteen patients (105 males, 8 females) undergoing primary isolated coronary artery bypass with normo- (37°C) or hypothermic (26°C) systemic perfusion were prospectively studied. The clinical course of the patients was recorded and inflammatory and fibrinolytic markers (C-reactive protein, fibrinogen, interleukin-6, plasminogen activator inhibitor-1, prothrombin time, activated partial thromboplastin time, platelets and white blood cell counts) were determined before surgery, 24, 48 and 72 hours thereafter, and at hospital discharge.

**Results.** Two patients died (mortality 1.7%) and 6 had a major complication (event free survival > 94%). Interleukin-6, lymphocyte, neutrophil and monocyte levels increased after surgery but returned to normal at hospital discharge. C-reactive protein levels increased after 24 hours and remained high at hospital discharge. Plasminogen activator inhibitor-1, prothrombin time, and activated partial thromboplastin time increased from few hours postoperatively and returned to normal before discharge. Platelets decreased immediately after surgery and normalized only at hospital discharge. Fibrinogen decreased in the first 24 postoperative hours, raised later and remained elevated at hospital discharge.

**Conclusions.** Cardiopulmonary bypass activates inflammatory response and hemostatic/fibrinolytic balance in patients undergoing primary isolated coronary artery bypass.

(Ital Heart J Suppl 2002; 3 (6): 646-651)

© 2002 CEPI Srl

Ricevuto il 20 novembre 2001; nuova stesura il 18 marzo 2002; accettato il 20 marzo 2002.

## Per la corrispondenza:

Dr. Mario Gaudino  
Cattedra di  
Cardiochirurgia  
Università Cattolica  
del Sacro Cuore  
Policlinico A. Gemelli, 8  
00168 Roma  
E-mail:  
mgaudino@tiscalinet.it

## Introduzione

Gli effetti infiammatori e fibrinolitici del bypass cardiopolmonare, sebbene dimostrati nella loro globalità, rimangono da caratterizzare e definire nelle varie fasi<sup>1-3</sup>.

Questo studio prospettico è stato concepito per descrivere e caratterizzare l'andamento dei principali marker infiammatori e fibrinolitici nei pazienti sottoposti ad intervento di rivascolarizzazione miocardica mediante circolazione extracorporea (CEC).

## Materiali e metodi

Previa approvazione del Comitato Etico dell'Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma è stato iniziato, nel gennaio 1998, uno studio prospettico sull'attivazione coa-

gulativa ed infiammatoria postoperatoria nei pazienti sottoposti ad intervento di rivascolarizzazione miocardica (Fibrinolisi e Infiammazione nella Fase Acuta - FIFA).

A partire da questa data sono stati studiati nel nostro centro tutti i pazienti programmati per essere sottoposti ad intervento elettivo di bypass aortocoronarico. Al fine di massimizzare l'omogeneità e la comparabilità tra i pazienti sono stati adottati criteri di esclusione rigorosi; sono stati infatti esclusi dallo studio tutti i pazienti con procedure chirurgiche cardiache e non associate, età > 80 anni, malattia di un singolo vaso, rivascolarizzazione d'emergenza o urgenza, frazione di eiezione ventricolare sinistra < 30%, malattia carotidea, precedenti accidenti cerebrovascolari, dialisi cronica, danno epatico, insufficienza respiratoria o renale, coagulopatie, infezione at-

tiva e terapia antinfiammatoria cronica. Al fine di evitare gli effetti della variabilità circadiana, sono stati considerati solamente i pazienti operati tra le ore 8.00 e le ore 10.00. Dopo l'arruolamento i pazienti sono stati randomizzati per l'utilizzo della CEC normotermica (58 pazienti) o ipotermica e sono stati preparati per l'intervento. Tutti i pazienti hanno dato il loro consenso per partecipare al protocollo di studio.

La raccolta dei dati è terminata nel maggio 1999 e sono stati inclusi nello studio un totale di 113 casi.

**Tecnica chirurgica.** Dopo aver eseguito la sternotomia mediana longitudinale, il bypass cardiopolmonare è stato stabilito nel modo standard cannulando l'atrio destro e l'aorta ascendente. Per l'anticoagulazione è stato somministrato un bolo intravenoso di eparina (300 UI/kg) seguito da boli di 100 UI/kg. Durante la CEC la temperatura nasofaringea è stata mantenuta a 37 o 26°C. La protezione miocardica è stata sempre ottenuta tramite cardioplegia anterograda ematica isotermica intermittente. L'arteria mammaria interna sinistra è stata usata come graft per il ramo discendente anteriore dell'arteria coronaria sinistra, ed altri condotti venosi o arteriosi per gli altri vasi coronarici. Alla fine del bypass cardiopolmonare, l'eparina è stata inibita da solfato di protamina (1-1.5 mg per 100 UI di eparina).

**Metodi di misura e di analisi.** Sono stati raccolti i campioni di sangue immediatamente prima dell'intervento chirurgico, dopo 24, 48, 72 ore e prima della dimissione ospedaliera; i campioni sono stati raccolti in citrato trisodio (0.106 M) e centrifugati immediatamente a 3000 g a 4°C per 20 min; il plasma è stato conservato a -80°C entro 1 ora di campionamento; la componente cellulare è stata conservata a -20°C.

Le concentrazioni plasmatiche delle seguenti molecole sono state mantenute in un laboratorio centrale:

- la proteina C reattiva è stata misurata mediante metodo nefelometrico (APS, Beckman, Palo Alto, CA, USA);

- le concentrazioni plasmatiche del fibrinogeno sono state rilevate mediante il metodo funzionale di Clauss (MLA 1600, Dade, Miami, FL, USA);

- i livelli di interleuchina-6 sono stati analizzati con il sistema "ELISA IL-6" (Human Biotrak Elisa System, Amersham Pharmacia Biotech, Monza-MI, Italia);

- i livelli dell'antigene dell'inibitore dell'attivatore del plasminogeno-1 (PAI-1) sono stati determinati mediante un anticorpo commerciale doppio fissato a sandwich ad un enzima su un supporto immunoassorbente (Bio-pool, Umea, Svezia).

Il tempo di protrombina (espresso come international normalized ratio-INR), il tempo di tromboplastina parziale attivato (aPTT), le piastrine, i globuli bianchi del sangue come neutrofili, linfociti e monociti, sono stati misurati nel laboratorio ospedaliero e sono stati utilizzati anche per il controllo clinico del paziente dopo l'intervento.

**Analisi statistica.** Sono stati utilizzati i test del  $\chi^2$  o di Fisher per comparare i parametri discreti. Le correlazioni sono state fatte mediante i metodi di Pearson o di Spearman. Le variabili continue sono state comparate mediante analisi di varianza parametrica o non parametrica. Sono state utilizzate analisi di varianza ripetute per saggiare più volte i cambiamenti nelle concentrazioni dei differenti parametri, nell'insieme della popolazione. Sono state utilizzate analisi di varianza ripetute (procedura GLM per SAS) per la misura delle concentrazioni dei differenti marker nei diversi intervalli. Le analisi sono state condotte usando il software di analisi dei dati SAS<sup>8</sup>. Un valore di  $p < 0.05$  è stato considerato statisticamente significativo.

## Risultati

**Popolazione.** Le caratteristiche preoperatorie dei pazienti sono mostrate nella tabella I. I risultati operatori sono riportati nella tabella II. Il decorso clinico postoperatorio dei 113 pazienti è riassunto nella tabella III.

Sono state definite complicanze maggiori l'insorgenza di un infarto miocardico acuto, exitus, sepsi, shock, ictus cerebri, necessità di reintervento, e complicanze minori l'insorgenza di insufficienza renale, insufficienza respiratoria, ventilazione meccanica > 24 ore, supporti inotropi > 24 ore, revisione chirurgica per sanguinamento, necessità di trasfusioni.

Nel postoperatorio 2 pazienti sono morti: uno in terza giornata postoperatoria a causa di un'embolia polmonare massiva ed un altro per un infarto miocardico

**Tabella I.** Caratteristiche preoperatorie dei pazienti.

N. pazienti	113
Sesso (M/F)	105/8
Fattori di rischio cardiovascolari	
Diabete	23
Fumo di sigaretta	45
Dislipidemia	30
Ipertensione	71
Familiarità per CAD	34
Progresso IMA	57
Malattia del tronco comune	11
Scompenso cardiaco	5
Frazione di eiezione < 50%	29

CAD = coronaropatia; IMA = infarto miocardico acuto.

**Tabella II.** Caratteristiche perioperatorie dei pazienti.

Tempo CEC (min)	75 ± 21
Tempo di clampaggio (min)	62 ± 18
N. graft/paziente	
2	22
3	55
4	30
5	5

CEC = circolazione extracorporea.

**Tabella III.** Decorso e complicanze postoperatorie.

Pazienti con complicanze maggiori*	6
Exitus	2
Ictus cerebrali	0
IMA	5
Sepsi	1
Shock	1
Reintervento	2
Pazienti con complicanze minori**	37
Insufficienza renale	1
Insufficienza respiratoria	2
Ventilazione meccanica > 24 ore	9
Supporto inotropo > 24 ore	5
Revisione per sanguinamento	8
Trasfusioni	28
<b>Decorso postoperatorio</b>	
Sanguinamento postoperatorio (ml)	753 ± 218
Degenza media in TICCH (giorni)	2.0 ± 2.7
Degenza media postoperatoria (giorni)	6.1 ± 3.2

IMA = infarto miocardico acuto; TICCH = terapia intensiva cardiocirurgica. \* = 3 pazienti hanno sviluppato più di una complicanza maggiore; \*\* = 7 pazienti hanno sviluppato almeno due complicanze minori.

insorto 8 giorni dopo l'intervento (mortalità 1.7%); 5 pazienti hanno sviluppato un infarto miocardico acuto, 2 un'insufficienza respiratoria ed 1 paziente un'insuffi-

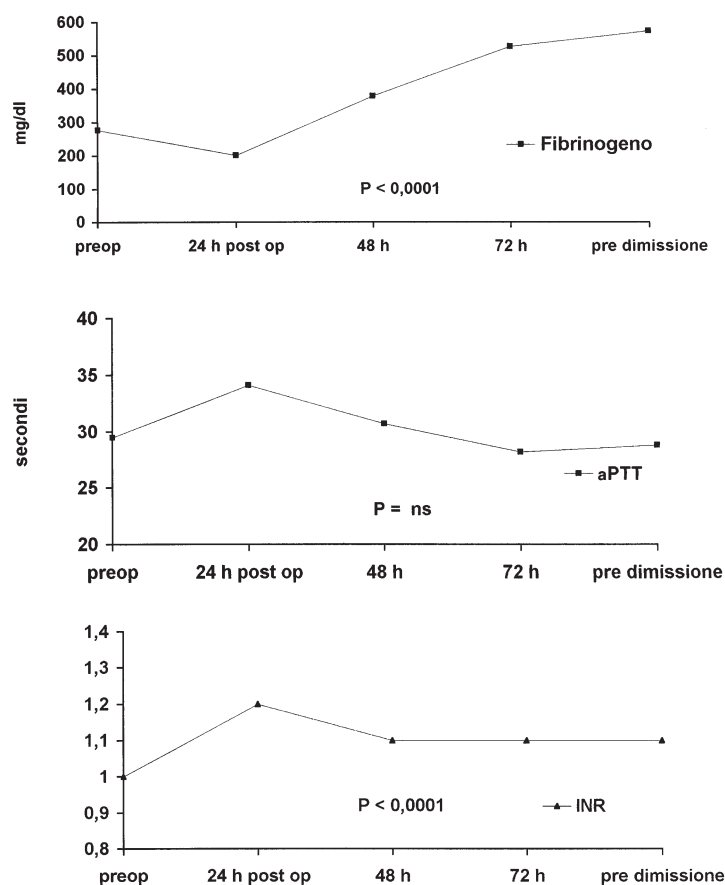
cienza renale. In un paziente è insorta una sindrome settica e 2 pazienti sono stati rioperati per l'evidenza clinica e strumentale di malfunzionamento dei graft.

Otto pazienti hanno necessitato di una revisione chirurgica per sanguinamento e 28 di trasfusioni di sangue. Complessivamente, 38 pazienti hanno sviluppato almeno una complicanza postoperatoria (6 maggiori e 37 minori) e 31 hanno avuto complicanze emorragiche.

La degenza in terapia intensiva cardiocirurgica ed in reparto dopo l'intervento è stata rispettivamente di  $2.0 \pm 2.7$  e  $6.1 \pm 3.2$  giorni.

**Andamento dei marker infiammatori e di fibrinolisi.** La concentrazione e l'andamento dei marker ematici dell'attivazione fibrinolitica ed infiammatoria misurati in tutti i pazienti sono riportati nelle figure 1-4.

Sia i marker della coagulazione che dell'infiammazione cambiano significativamente nel periodo postoperatorio: la concentrazione ematica del fibrinogeno si riduce fino a 24 ore dall'intervento per poi aumentare e raggiungere il picco dal secondo giorno postoperatorio sino alla dimissione (azione come da proteina di fase acuta); l'aPTT è l'unico marker che aumenta in modo non significativo, l'INR invece aumenta durante le prime 24 ore postoperatorie e ritorna a valori normali già 48 ore dopo l'intervento.



**Figura 1.** Indici di coagulazione ematica misurati a differenti intervalli. aPTT = tempo di tromboplastina parziale attivato; INR = international normalized ratio.

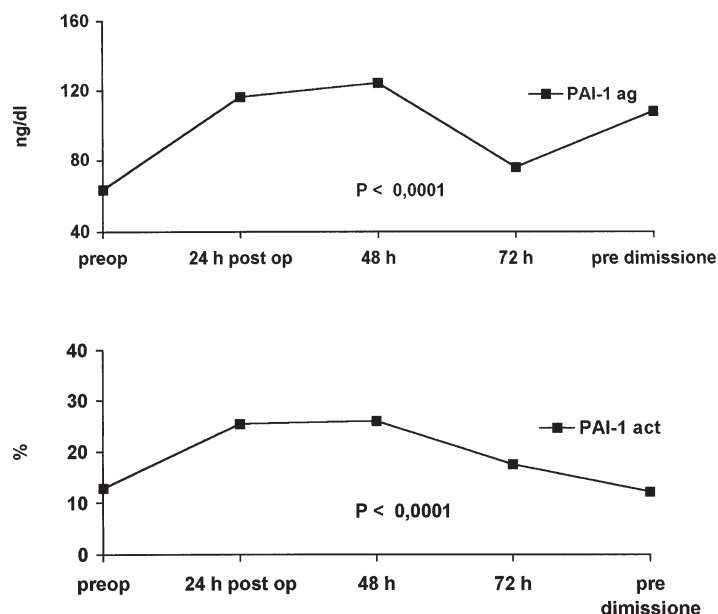


Figura 2. Livelli di inibitore dell'attivatore del plasminogeno-1 (PAI-1) misurati a differenti intervalli.

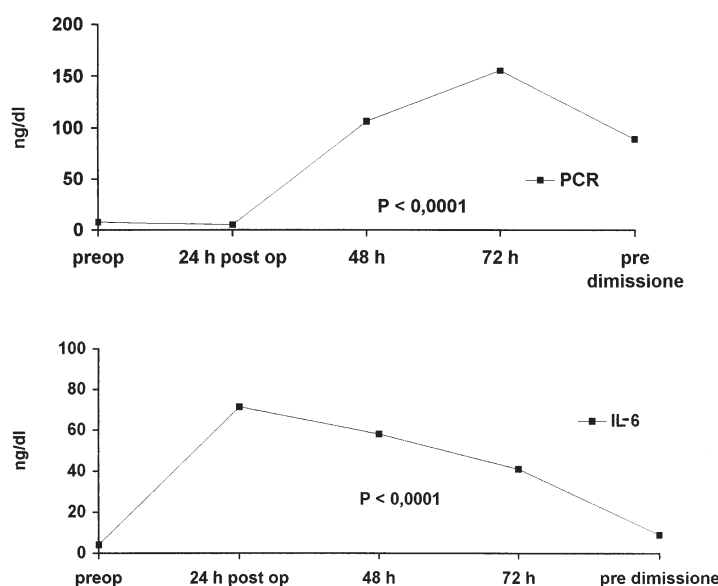


Figura 3. Indici infiammatori misurati a differenti intervalli. IL-6 = interleuchina-6; PCR = proteina C reattiva.

Il PAI-1 antigene raggiunge un picco 48 ore dopo l'intervento, torna alla normalità a 72 ore ma si rialza in predimissione ospedaliera; il PAI-1 attività invece aumenta già dopo poche ore dall'intervento ma si normalizza dopo 72 ore.

La concentrazione di interleuchina-6 aumenta dopo poche ore dall'intervento, raggiunge il picco a 24 ore per poi ridursi e tornare alla norma successivamente; la proteina C reattiva inizia ad aumentare solo dopo 24 ore dall'intervento, raggiunge il picco dopo 72 ore e si mantiene elevata sino alla dimissione.

Globuli bianchi, neutrofili e linfociti raggiungono il picco 24 ore dopo l'intervento e si riducono marcata-

mente sino alla normalità in predimissione.

I monociti invece hanno un andamento difasico, infatti raggiungono la massima concentrazione 24 ore dopo l'intervento, si riducono a 48 ore, ma hanno un secondo picco in predimissione.

Le piastrine si riducono a partire dalle prime ore postoperatorie per tornare normali solo alla dimissione ospedaliera. Non è stata notata alcuna differenza significativa ( $p = NS$ ) nell'andamento dei principali marker infiammatori e di coagulazione nei pazienti affetti da complicanze maggiori rispetto a quelli con un decorso postoperatorio regolare e rispetto alla popolazione generale.

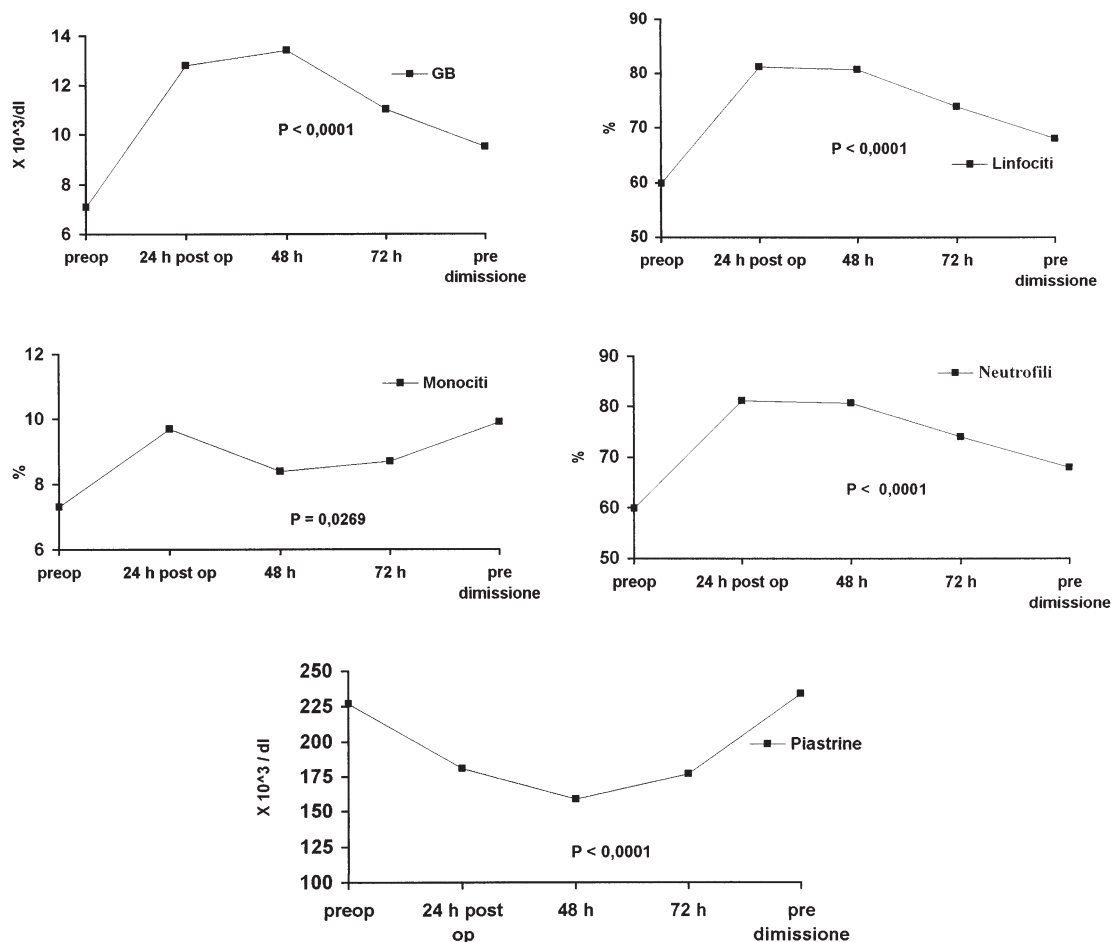


Figura 4. Indici ematologici misurati a differenti intervalli. GB = globuli bianchi.

## Discussione

L'andamento dei principali marker infiammatori e fibrinolitici dopo l'utilizzo della CEC nei pazienti sottoposti ad intervento di rivascolarizzazione miocardica non è stato ancora completamente stabilito<sup>2,3</sup>.

Numerosi studi infatti hanno descritto solo gli effetti clinici dei processi infiammatori e fibrinolitici conseguenti alla CEC ma non ne hanno sistematizzato e descritto l'andamento temporale<sup>1-5</sup>.

Inoltre la maggior parte di tali studi presenta limitazioni legate al basso numero di casi, al ridotto numero di intervalli di campionamento, alla mancanza di un metodo prospettico e di criteri rigorosi per l'inclusione dei pazienti o di una strategia chirurgica uniforme<sup>3-11</sup>.

Il presente studio invece è stato condotto in modo prospettico, su un numero elevato di pazienti e soprattutto utilizzando criteri di esclusione rigorosi.

L'analisi dei dati ha dimostrato come il bypass cardiopolmonare abbia determinato una variazione significativa degli indici infiammatori e fibrinolitici; infatti, escludendo tutti quei pazienti che preoperatoriamente potessero avere dei fattori promuoventi l'infiammazione e/o la fibrinolisi, abbiamo dimostrato come l'utilizzo della CEC porti ad un innalzamento dei principali

marker ematici del sistema infiammatorio (proteina C reattiva, interleuchina-6, globuli bianchi) e ad una modifica dei principali marker del sistema coagulativo/fibrinolitico (piastrine, PAI-1, tempo di protrombina).

I marker infiammatori e fibrinolitici però non si modificano in modo univoco e ogni parametro tende ad avere un andamento differente. La proteina C reattiva ad esempio aumenta solo dopo 24 ore mentre l'interleuchina-6 si innalza già dopo qualche ora, inoltre la prima si mantiene elevata anche in predimissione mentre la seconda si normalizza. Anche l'andamento dei globuli bianchi, se analizzato nei vari componenti, non presenta un trend sovrapponibile, infatti mentre l'aumento di neutrofili e linfociti segue un andamento monofasico quello dei monociti ha un tipico andamento difasico.

Infine abbiamo evidenziato come anche l'assetto coagulativo si modifichi in modo eterogeneo: l'aPTT ad esempio è quello che meno di tutti sembra essere influenzato dalla CEC; l'INR pur aumentando significativamente torna già in seconda giornata postoperatoria ai valori di norma mentre le piastrine si riducono significativamente già dopo le prime ore e si normalizzano solo in predimissione. Il fibrinogeno infine sembra avere un andamento tipico da proteina di fase acuta ini-

ziando ad aumentare solo dopo 24 ore e mantenendosi elevato anche in predimissione.

In conclusione, il bypass cardiopolmonare modifica significativamente i principali marker infiammatori e fibrinolitici nei pazienti sottoposti ad intervento di rivascolarizzazione miocardica. In considerazione di una mortalità pari all'1.7% e di un'incidenza di complicanze maggiori poco inferiore al 6% è ragionevole affermare che nei pazienti a basso rischio operati di rivascolarizzazione miocardica la CEC, pur attivando la risposta infiammatoria e modificando l'attività coagulativa, rimane una procedura sicura non inficiando in modo significativo il decorso clinico dei pazienti: molti marker infatti tendono alla riduzione sino al ritorno alla normalità già al momento della dimissione del paziente.

## Riassunto

**Razionale.** Scopo dello studio è stato determinare l'andamento dei principali marker infiammatori e fibrinolitici nei pazienti sottoposti a primo intervento di rivascolarizzazione miocardica isolata in circolazione extracorporea.

**Materiali e metodi.** Sono stati studiati prospetticamente 113 pazienti (105 maschi, 8 femmine) sottoposti a primo intervento isolato di rivascolarizzazione miocardica mediante perfusione sistemica normotermica (37°C) ed ipotermica (26°C). È stato registrato il decorso clinico dei pazienti e sono stati determinati i principali marker infiammatori e fibrinolitici (formula leucocitaria, proteina C reattiva, interleuchina-6, fibrinogeno, inibitore dell'attivatore del plasminogeno-1, tempo di protrombina, tempo di tromboplastina parziale attivato e piastrine) prima dell'intervento chirurgico, dopo 24, 48, 72 ore dall'intervento e prima della dimissione ospedaliera.

**Risultati.** Due pazienti sono morti (mortalità 1.7%) e 6 pazienti hanno sviluppato una complicanza maggiore nel postoperatorio (sopravvivenza libera da eventi > 94%). L'andamento dei principali marker infiammatori e fibrinolitici è stato variabile e non univoco: l'interleuchina-6, i linfociti, i neutrofili ed i monociti sono aumentati significativamente nel postoperatorio ma si sono ridotti alla dimissione. La proteina C reattiva si è innalzata significativamente dopo 24 ore dall'intervento e si è mantenuta elevata anche dopo la dimissione. L'inibitore dell'attivatore del plasminogeno-1, il tempo di trombopla-

stina parziale attivato ed il tempo di protrombina (calcolato come international normalized ratio) sono aumentati dopo poche ore dall'intervento per poi normalizzarsi in predimissione. Le piastrine si sono ridotte subito dopo l'intervento per tornare ai valori di norma solo in predimissione; il fibrinogeno invece è diminuito durante le prime 24 ore per poi aumentare e mantenersi aumentato anche in predimissione.

**Conclusioni.** Il bypass cardiopolmonare determina un'attivazione significativa dei processi infiammatori e modifica l'assetto coagulativo e fibrinolitico nei pazienti sottoposti ad intervento di rivascolarizzazione miocardica primario isolato.

**Parole chiave:** Bypass aortocoronarico; Circolazione extracorporea; Fibrinolisi; Interleuchina-6.

## Bibliografia

1. Boyle EM Jr, Pohlman TH, Johnson MC, Verrier ED. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the systemic inflammatory response. *Ann Thorac Surg* 1997; 63: 277-84.
2. Asimakopoulos G. Mechanism of the systemic inflammatory response. *Perfusion* 1999; 14: 269-77.
3. Asimakopoulos G. Systemic inflammation and cardiac surgery: an update. *Perfusion* 2001; 16: 353-60.
4. Christakis GT, Koch JP, Deemar KA, et al. A randomized study of the systemic effects of warm heart surgery. *Ann Thorac Surg* 1992; 54: 449-59.
5. Czerny M, Baumer H, Kilo J, et al. Inflammatory response and myocardial injury following coronary artery bypass grafting with or without cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg* 2000; 17: 737-42.
6. Mojciak CF, Levy JH. Apoptin and the systemic inflammatory response after cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2001; 71: 745-54.
7. Wei M, Kuukasjarvi P, Laurikka J, et al. Cytokine responses and myocardial injury in coronary artery bypass grafting. *Scand J Clin Lab Invest* 2001; 61: 161-6.
8. SAS Institute. SAS/STAT users' guide, Version 6. Cary, NC: SAS Institute, 1989.
9. Diegeler A, Doll N, Rauch T, et al. Humoral immune response during coronary artery bypass grafting: a comparison of limited approach, "off-pump" technique, and conventional cardiopulmonary bypass. *Circulation* 2000; 102 (Suppl 3): III95-III100.
10. Wan S, LeClerc JL, Vincent JL. Cytokine responses to cardiopulmonary bypass: lessons learned from cardiac transplantation. *Ann Thorac Surg* 1997; 63: 269-76.
11. Mazer CD, Hornstein A, Freedman J. Platelets activation in warm and cold heart surgery. *Ann Thorac Surg* 1995; 59: 1481-6.