

INIBIDORES DE PROTEASES E TERAPÊUTICA ANTIFIBRINOLÍTICA

RICARDO MANRIQUE*

Proteases são enzimas proteolíticas, cuja principal característica é destruir moléculas protéicas. Existem na natureza, bem como no organismo humano. Como exemplos temos a tripsina, sintetizada no pâncreas, cuja função fisiológica é a digestão das proteínas da alimentação. Em condições patológicas, a tripsina pode atingir a corrente sanguínea ou os tecidos peripancreáticos, causando grandes lesões. Uma outra função das proteases está relacionada com coagulação e a fibrinólise. A trombina e a plasmina, elementos fundamentais desses sistemas, são proteases.

Neste artigo sobre o uso de inibidores de proteases, discutiremos particularmente as proteases relacionadas ao sistema hemostático e sua participação no sistema de emergência biológica.

Fisiologia do sistema fibrinolítico

A fibrinólise é responsável, fisiologicamente, pela remoção da fibrina excedente após o processo hemostático, quando sua atividade se eleva anormalmente, podendo desencadear quadros hemorrágicos conhecidos como hiperfibrinolíticos.

Bioquimicamente, podemos definir a fibrinólise como sendo uma atividade enzimática proteolítica caracterizada pela ação da plasmina. A plasmina não existe normalmente em forma livre circulante no organismo. Ela é formada pela transformação de um precursor inativo chamado plasminogênio. Essa transformação é controlada pela presença de uma outra enzima denominada ativador, o qual pode ser de diversos tipos. O ativador sanguíneo é formado a partir de um pró-ativador. No sangue circulante, encontra-se somente plasminogênio e pró-ativador, caracterizando o sistema fibrinolítico como um sistema em potencial. Em caso de urgência e de necessidade do sistema fibrinolítico, o pró-ativador é transformado em ativador e o plasminogênio em plasmina.

O esquema hemostático do sistema fibrinolítico complementa-se com os inibidores naturais da fibrinólise: os antiativadores e as antiplasminas (fig. 1).

O mecanismo de ação fibrinolítica da plasmina baseia-se na análise das ligações dos aminoácidos lisina e arginina da molécula protéica (fibrina por exemplo). Como consequência, temos a quebra da cadeia protéica, formando-se polipeptídeos denomina-

dos produtos de degradação da fibrina. Esses são inicialmente do tipo macromolecular, conhecidos como X e Y, e do tipo micromolecular (D e E) (fig. 2).

Os produtos de degradação da fibrina são definidos como moléculas polipeptídicas, que não têm a capacidade de refazer uma nova estrutura do tipo da

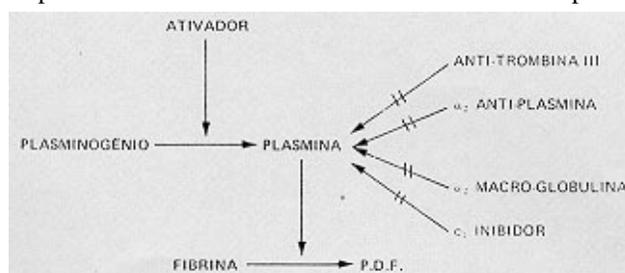


Fig. 1 - Esquema do sistema fibrinolítico.

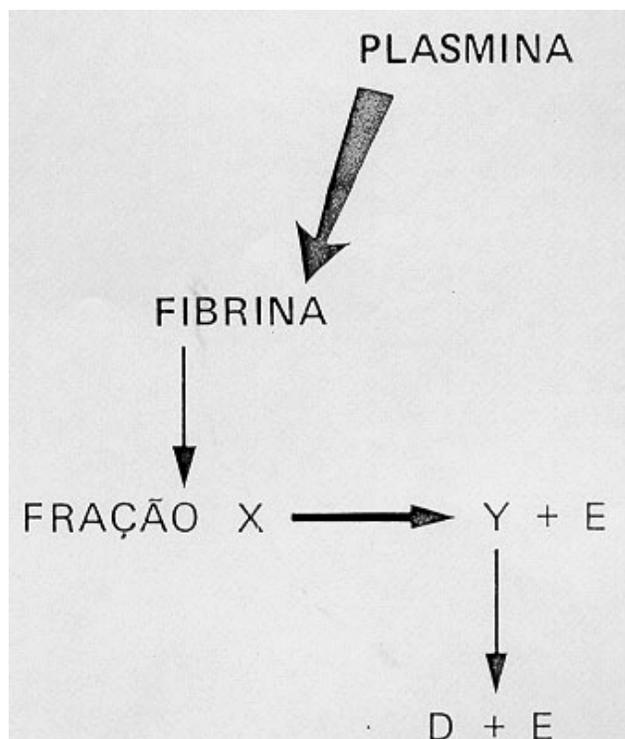


Fig. 2 - Mecanismo de formação dos produtos de degradação da fibrina.

* Médico-Chefe do Laboratório de Pesquisas do Instituto "Dante Pazzanese" de Cardiologia.

da fibrina, porém podem adquirir características patogênicas. Assim, os do tipo X podem atuar como competidores da trombina e os tipos D e E como antipolimerizantes.

Para explicar a transformação do plasminogênio em plasmina existem 3 vias principais (fig. 3).



Fig. 3 - Vias de ativação do plasminogênio.

A via extrínseca, à qual pertencem os ativadores não plasmáticos é subdividida em: a) ativadores vasculares, próprios da parede vascular; b) ativadores tissulares, presentes nos tecidos e possuindo capacidade diferente de ativar o sistema fibrinolítico.

Assim, é no endométrio uterino que se concentra a maior capacidade ativadora da fibrinólise no corpo humano. A finalidade é liquefazer o sangue menstrual. Sua deficiência leva à formação de coágulos, cuja dificuldade de eliminação provoca cólicas.

A próstata também possui elevada atividade prófibrinolítica, tanto no tecido como no líquido prostático. A finalidade é lisar o tampão mucoso que obstrui o colo interno para permitir a passagem dos espermatozoides à cavidade uterina e a fecundação do óvulo. A função fibrinolítica do líquido prostático é tão importante que, atualmente, sua deficiência tem sido considerada como causa de esterilidade masculina.

O nível de ativadores tissulares é igualmente importante no campo fisiopatológico. O risco de hemorragia hiperfibrinolítica é maior em cirurgias realizadas em órgãos ricos em ativadores, por exemplo, próstata e pulmão. O estado patológico do órgão é também importante.

Tecidos fibrosados possuem maior atividade prófibrinolítica que os tecidos normais. A explicação para esse fenômeno é que a fibrose é precedida pela formação de fibrina local como componente inflamatório. A atividade fibrinolítica tem como função remover a fibrina, e assim, indiretamente controlar a fibrose.

Esta modificação do potencial pró-fibrinolítico é especialmente evidente a nível hepático. Em condições normais, o fígado não possui ativadores fibrinolíticos; porém o fígado cirrótico tem ativadores. Do ponto de vista cirúrgico, é totalmente diferente operar um fígado normal, por exemplo, por lesão traumática, do que operar um fígado cirrótico. Essa diferença também é reconhecida a nível pulmonar e, de fato, a maior frequência de hemorragias observa-se em toracotomia por lesões crônicas pulmonares

e aderências pleurais apresentando, freqüentemente, sangramento nos locais de aderência, problema esse que pode ser controlado com tratamento local e uso de antifibrinolíticos.

A segunda via de ativação do sistema fibrinolítico é conhecida como via intrínseca, a qual é constituída por: a) fatores independentes do fator XII pró-coagulante; b) um pró-ativador plasmático dependente do fator XII.

A terceira via de ativação está relacionada a mecanismos denominados exógenos, pois são causados por substâncias que não pertencem ao organismo humano. Por exemplo, a estreptoquinase, que é o extrato da membrana de alguns tipos de estreptococos.

Qualquer que seja a via, a tendência é uma ativação direta ou indireta da plasmina. O interessante nestas vias é a sua capacidade de estimulação, que pode ser esgotada em forma específica. Assim, a ativação fibrinolítica pelo ácido nicotínico é "esgotada" após aplicações sequenciais. Nessa condição, novas aplicações de ácido nicotínico não provocam reação fibrinolítica, porém, se se aplicam estreptoquinase, uroquinase ou endotoxinas bacterianas, induz-se uma resposta fibrinolítica.

O sistema fibrinolítico segue o mesmo esquema hemostático geral, que se complementa com a existência de inibidores, cuja finalidade é bloquear ativações espúrias intravasculares. Essa é uma das razões pela qual não existe normalmente plasmina livre circulante.

Os inibidores da plasmina são: antitrombina III, que além do efeito anticoagulante tem a capacidade de bloquear a plasmina; alfa II-antiplasmina, alfa II-macroglobulina e o inibidor do complemento (C). Plasmina circulante só existirá quando a magnitude da formação sobrepassar a barreira inibitória.

A capacidade de formar plasmina, bem como a de inibir, são individuais. É importante reconhecer que "in vivo" a atividade fibrinolítica não existe iso-

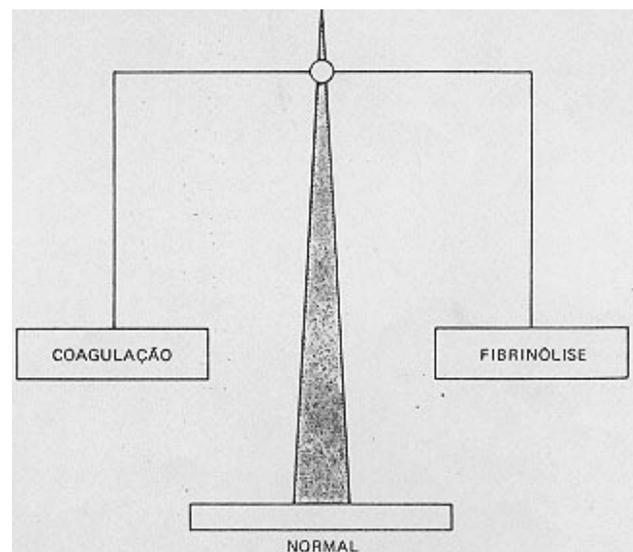


Fig. 4 - Equilíbrio hemostático.

ladamente, mas relacionada com o sistema de coagulação. O esquema hemostático está em equilíbrio e a ativação de um deles tem como consequência o aumento funcional compensatório do outro, regra geral na homeostasia (fig. 4). Esse equilíbrio implica que, em condições normais, uma hiperfibrinólise seja compensada por uma hipercoagulação. A quebra desse equilíbrio traz como consequência distúrbios da coagulação, ou seja, toda vez que o equilíbrio for alterado, haverá o risco de hemorragia ou de trombose (fig. 5 e 6).

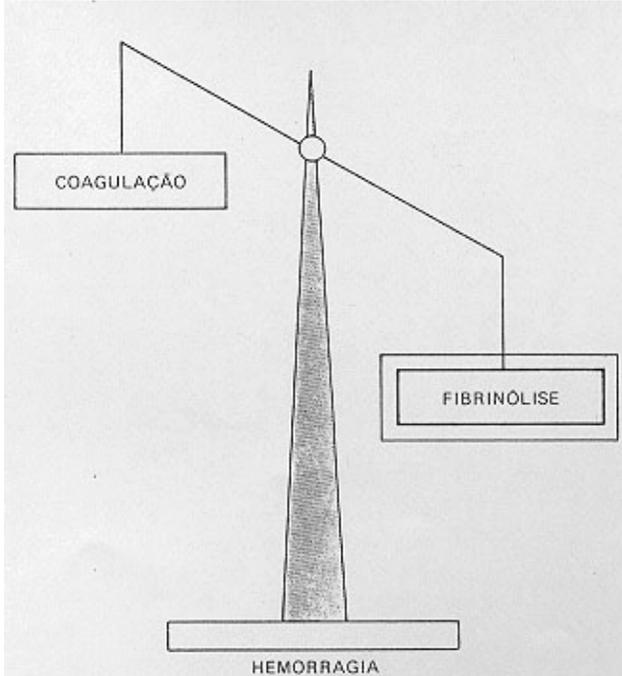


Fig. 5 - Desequilíbrio da homeostasia. Fisiopatologia da hemorragia por predomínio fibrinolítico.

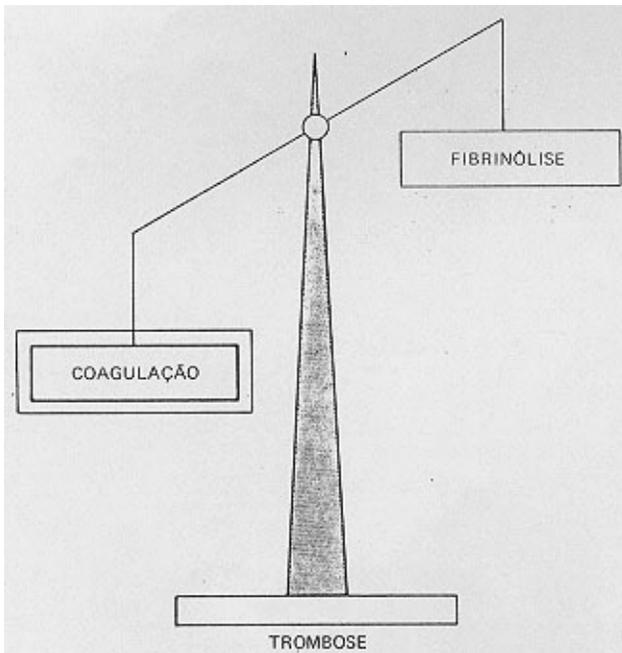


Fig. 6 - Desequilíbrio da homeostasia.

Sistema biológico de emergência - fisiologia e fisiopatologia

Por sua vez, o sistema hemostático está integrado em um contexto maior que abrange todos os mecanismos envolvidos na preservação da vida. São os chamados sistemas de emergência. Neles estão integrados: coagulação, fibrinólise, imunidade, inflamação e dor. Ocorre, do ponto de vista funcional, uma seqüência que caracteriza uma reação em cadeia, sendo que na prática não existe uma ativação individual. Assim, a seqüência de um problema trombótico permite reconhecer essa interrelação e explicar o achado clínico. Por que o trombo, ao obstruir um vaso, desencadeia um processo inflamatório?

A explicação é que o trombo, asséptico, deflagra o processo inflamatório, não por intercorrência infecciosa, mas pela ativação dos sistemas imunitários, dor e inflamação, devido à interação do sistema de coagulação no esquema do sistema de emergência. Cada um destes componentes possui uma função. A dor informa que alguma alteração está ocorrendo; a inflamação é caracterizada pela diapedese leucocitária; o edema, pelo aumento da permeabilidade capilar; o rubor, pela vasodilatação e o calor, pelo aumento da circulação. O esquema bioquímico que explica este complexo sistema está relacionado com a "ativação pelo contato" (fig. 7).

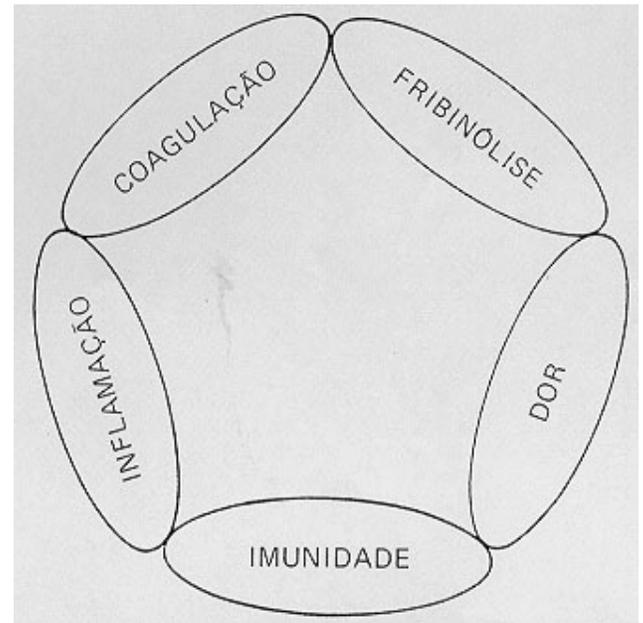


Fig. 7 - Sistema de emergência.

No plasma existem fatores de coagulação capazes de reagir ao contato com superfícies estranhas ou seja, superfícies com características físico-químicas diferentes das do endotélio vascular. Este mecanismo é o centro da ativação simultânea do sistema de emergência (fig. 8).

Quando o tecido sanguíneo entra em contato com uma superfície diferente da do endotélio vascular,

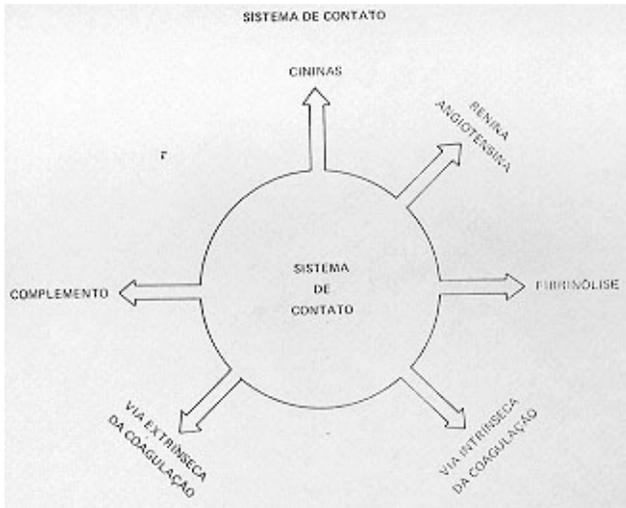


Fig. 8 - Papel central do sistema de contato na interligação do sistema de emergência.

ocorre alteração de um fator plasmático sensível ao contato, denominado fator XII, o qual passa à sua forma ativa: fator XIIA. O fator XIIA, com a colaboração do cininogênio, transforma a pré-caliceína em caliceína. A caliceína é intermediária da dor, aumenta a permeabilidade vascular e induz à produção de bradicinina, outra substância capaz de produzir dilatação. Este fato explica o rubor local e o aumento da permeabilidade. A caliceína promove também a transformação do plasminogênio e plasmina e assim tenta restabelecer o equilíbrio hemostático. A plasmina e a caliceína retroalimentam o sistema de coagulação via fator XII, bem como ativam o complemento 1, que faz parte do sistema imunitário. A caliceína tem uma posição central no sistema de ativação direta e por retroalimentação do fator XII (fig. 9).

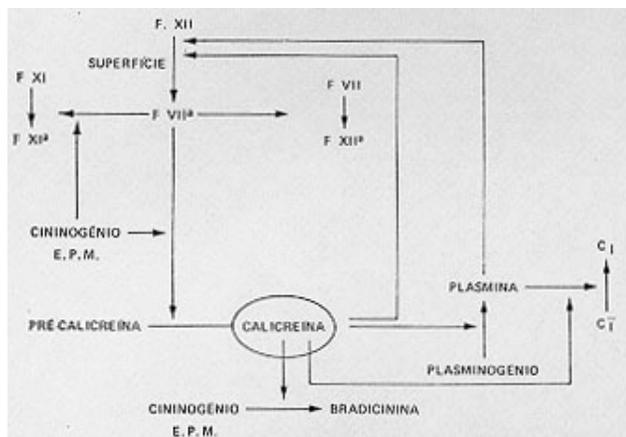


Fig. 9 - Ativação do sistema de emergência.

O efeito biológico das substâncias vasoativas, como cinina e caliceína, é de curta duração em condições normais. Uma das principais razões é que a simples passagem do sangue através dos pulmões as neutraliza. Deve ser lembrado que muitos dos

conhecimentos sobre as cininas se devem ao Prof. Rocha e Silva, que foi pioneiro na pesquisa dessas substâncias, sendo ele o descobridor da bradicinina e muitas de suas propriedades. Uma de suas experiências clássicas consistia em injetar bradicinina numa veia periférica e logo após tentar determinar sua presença no sangue arterial. Constatou que era impossível documentar qualquer efeito bradicinínico no sangue arterial, indicando que o tecido pulmonar a neutralizava totalmente.

Este fato define o pulmão como o principal órgão na neutralização da bradicinina. Deve ser considerado o risco de eliminar o pulmão da circulação, durante a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea. Substâncias ativadas pelo contato sangüíneo com área de material não-biológico, diferente do endotélio vascular, estimularão a produção de cininas e caliceínas e essas não serão inativadas pelo pulmão. Em conseqüência, dois fatores irão promover um acentuado efeito vasoativo: 1) produção aumentada de cininas e caliceínas pelo contato com superfícies estranhas; 2) diminuição da neutralização dessas enzimas pelo pulmão.

A manifestação clínica é o aparecimento de petéquias, que podem ser observadas na base da aorta e no pericárdio, após alguns minutos de instalação da circulação extracorpórea.

Em um trabalho experimental inicial, realizamos estudo comparativo dos níveis de cinina em dois grupos de animais: 1. cães submetidos à toractomia; 2. cães submetidos à toractomia + circulação extracorpórea com auxílio do coração-pulmão artificial.

No primeiro grupo, a anestesia e a toracotomia não produziram aumento da atividade cinínica periférica. Porém, no grupo com circulação extracorpórea, o aumento do efeito cinínico foi significativamente elevado.

A utilização de inibidores de proteases permite diminuir os níveis da atividade dessas substâncias vasoativas em cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea. Estudos realizados em seres humanos basearam-se na dosagem da pré-caliceína, que é inversamente proporcional à caliceína. Assim, se durante um procedimento cirúrgico encontramos níveis normais ou elevados de pré-caliceína, podemos concluir que não houve formação de caliceína. Porém, quando o nível de pré-caliceína diminui em relação ao valor-controle, isso significa que houve formação de caliceína.

Na cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea, observa-se queda dos níveis de pré-caliceína durante o ato operatório, os quais se mantêm baixos no pós-operatório imediato e tendem a normalizar-se após 24 a 48 horas (fig. 10).

A formação exagerada de caliceína indica que todos os componentes do sistema de emergência também estão ativados. A conclusão é que, na cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea, ocorrerá uma ativação de todos os componentes do sistema de emergência, como coagulação, fibrinólise, caliceína cininas, etc. A conduta terapêutica deve ser a neu-

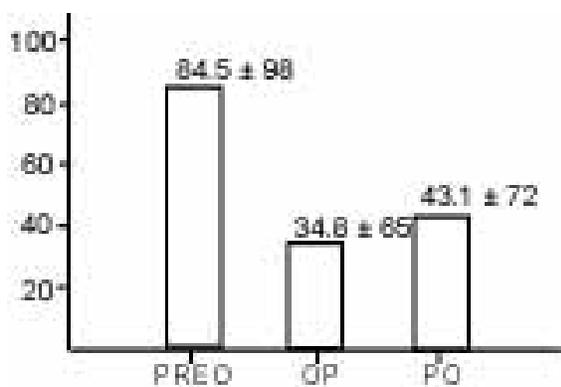


Fig. 10 - Evolução da pré-caliceína na cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea. Em ordenadas: porcentual de ativação.

tralização parcial de todos esses fatores anormalmente ativados.

Hemorragia hiperfibrinolítica: fisiopatologia

Centralizando a discussão sobre a hiperfibrinólise, podemos falar sobre quadros primários e secundários, bem como de problemas locais e sistêmicos.

Um quadro típico de hiperfibrinólise local é a síndrome do coágulo retido. Um paciente apresentando um quadro hemorrágico com hemotórax à esquerda foi um dos primeiros casos por nós estudados para estabelecer a fisiopatologia da síndrome do “coágulo retido”.

Até há pouco tempo a causa desta síndrome era desconhecida e o tratamento restringia-se à reoperação e à retirada do coágulo.

As hipóteses eram diversas, acreditando-se numa possível influência da anestesia, num efeito neurovegetativos, etc. No caso acima mencionado, realizamos estudos do sangue periférico, cujos resultados foram normais no pós-operatório, quer do ponto de vista da coagulação, como da função e número das plaquetas. A atividade fibrinolítica no sangue periférico era igualmente normal. O que chamava atenção é que o paciente perdia um volume importante de sangue, através do dreno e a análise desse sangue mostrava elevada atividade fibrinolítica.

Como explicar essas diferenças? Anteriormente referimos que os diferentes tecidos possuem atividade fibrinolítica variável e que o tecido pulmonar possui uma quantidade muito grande de ativadores fibrinolíticos. Quando um coágulo se localiza no pulmão, completa-se o esquema fibrinolítico, pois o coágulo fornece e plasminogênio. Os ativadores transformam o plasminogênio em plasmina e esta atuará destruindo os trombos homeostáticos que se formam na área cirúrgica. Essa condição leva à hemorragia local, causada por hiperfibrinólise. A análise do coágulo corrobora essa hipótese, pois é um coágulo friável, parcialmente destruído pelo efeito fibrinolítico. À medida que o coágulo permanece na cavidade, o sistema fibrinolítico

continua sendo ativado. A retirada do coágulo e lavagem da cavidade torácica têm como consequência o fim da hemorragia e a melhora do paciente.

Portanto, ao retirar o coágulo, estamos retirando a fonte de plasminogênio e assim interrompendo um círculo vicioso da fibrinólise. A conduta terapêutica nestes casos é a retirada do coágulo e a lavagem da cavidade com inibidor de proteases.

Vamos agora mencionar alguns exemplos de fibrinólise sistêmica. O primeiro foi um caso de fibrinólise no pós-operatório imediato. O paciente apresentava importante hemorragia, que teve início no pós-operatório. Consideramos esse como um caso típico para a utilização de inibidores de proteases na dose inicial de 200.000 unidades, seguida de 100.000 unidades de 6 em 6 horas. O resultado terapêutico foi ótimo.

O segundo caso tratou-se de uma hemorragia hiperfibrinolítica no 3.º dia do pós-operatório, relacionada principalmente com o estresse. A utilização de inibidores de proteases controlou o quadro hemorrágico com rápida normalização das variáveis laboratoriais.

As causas da hemorragia hiperfibrinolítica podem estar secundariamente relacionadas à hipocoagulação, plaquetomia ou vasculopatia. Por isso, as hemorragias hiperfibrinolíticas são complexas e de causas múltiplas, justificando a grande dificuldade para seu tratamento, quando já estabelecidas. Para explicar a hipocoagulação secundária à hiperfibrinólise é importante lembrar que a fibrina não é o substrato específico da plasmina e que esta enzima proteolítica é capaz de atacar outras estruturas protéicas que possuam os enlaces peptídicos sensíveis ao efeito plasmínico (arginina, lisina). Dentro desse grupo protéico estão o fibrinogênio, os fatores VIII, V e II, o que explicaria as complicações hemorrágicas secundárias ao uso de estreptoquinase, por exemplo. Além do efeito proteolítico dos pró-coagulantes, teríamos a ação dos produtos de degradação da fibrina.

A vasculopatia funcional é causada pela presença de cininas e caliceínas circulantes. Devemos lembrar que somente os inibidores de proteases têm ação sobre essas substância vasoativas.

Terapia antifibrinolítica - Inibidores de proteases

Do ponto de vista terapêutico, o uso de antifibrinolíticos pode ser profilático ou curativo e a aplicação pode ser local ou sistêmica. O inibidor de proteases é de origem bovina, retirado do pâncreas ou pulmão (por serem esses órgãos ricos em inibidores).

É importante, para melhor compreensão da farmacodinâmica e aplicação desses medicamentos, lembrar algumas de suas características principais. Os inibidores naturais de caliceína são extratos tissulares de estrutura polipeptídica. Por essa razão, a via de administração tem que ser parenteral, pois por via oral os polipeptídeos são rapidamente digeridos, perdendo assim sua atividade biológica. Das opções parenterais, a mais freqüente é a via endove-

nosa, porém é possível aplicar o fármaco por via subcutânea ou intramuscular. A passagem para o espaço extravascular é rápida, difundindo-se através dos tecidos e sendo seletivamente concentrada ao nível renal.

O tempo de vida média intravascular é de 50 a 70 minutos, quando administrado em doses de 200.000 U., podendo aumentar a 150 minutos, quando aplicado em dose de 500.000 U.

Os inibidores naturais de calicreína são metabolizados a nível hepático e renal, sendo excretados através dos rins na forma inativa. Essa forma de excreção é importante, pois os inibidores de proteases podem ser indicados em quadros hemorrágicos com sintomatologia de hematúria, pois não existe o perigo de coágulos obstruindo as vias urinárias por bloqueio do sistema uroquinase como acontece com os antifibrinolíticos sintéticos tipo epsilon aminocapróico.

O mecanismo de ação é do tipo direto, isto é, bloqueio primário dos pontos enzimáticos ativos das proteases. Devemos diferenciar este mecanismo de ação dos inibidores por competição.

Reações anafiláticas podem ocorrer raramente, principalmente em pessoas hipersensíveis, quer por contato prévio, ou sem contato prévio (idiossincrásico). Hipotensão também pode ocorrer devido à liberação de substâncias vasodilatadoras. O tratamento consiste na administração de corticosteróides por via endovenosa. Se ocorrerem reações severas, podem ser utilizados corticosteróides e adrenalina em associação. Deve-se ressaltar que a incidência de efeitos colaterais é muito baixa.

Aplicações clínicas

A indicação dos inibidores de proteases e dos antifibrinolíticos pode ser profilática, em circunstâncias nas quais a complicação hiperfibrinolítica ocorra com maior frequência, e terapêutica, na vigência de hemorragia hiperfibrinolítica.

Para terapêutica, os inibidores naturais de proteases são administrados na dose inicial de 200.000 U. I.V., "em bolo", seguida de 100.000 U. por hora. Essa terapia pode ser associada à aplicação de concentrados de fatores plasmáticos pró-coagulantes.

Lembremos que as hemorragias fibrinolíticas se associam a alterações do potencial pró-coagulante, por destruição enzimática de estruturas protéicas coaguláveis. Esta ação proteolítica é induzida pela presença da plasmina. Os alvos desse efeito são os fatores plasmáticos I (fibrinogênio), II (pró-trombina), V e VIII. Como conseqüência da degradação proteolítica originam-se polipeptídeos chamados produtos de degradação da fibrina (PDF), os quais atuam como inibidores da coagulação. Ao mesmo tempo, são ativados os sistemas de liberação de substâncias vasoativas (calicreína, cinina) os quais, em níveis anormalmente elevados, provocam

efeitos indesejáveis na parede vascular e colaboram à perpetuação do quadro hemorrágico.

A terapia adequada desses casos requer diagnóstico clínico-laboratorial preciso, especialmente devido às complicações hemostáticas associadas.

Em relação à profilaxia, a dose inicial para um adulto de 70 Kg é de 200.000 U diluídas em 250 ml de soro glicosado a 5%, em infusão intravenosa contínua. Nos casos cirúrgicos que, em nossa opinião, constituem a principal indicação profilática, deve-se aplicar a infusão desde a indução anestésica.

Os níveis plasmáticos obtidos têm a ação fundamental de inibir a calicreína. Um exemplo dessa aplicação é a cirurgia cardíaca em crianças portadoras de cardiopatia congênita cianótica.

A estratégia de bloquear a calicreína baseia-se na importância dessa substância na retroalimentação dos diversos mecanismos do sistema de emergência. Sabemos que, na cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea, o fato de excluir-se o pulmão prolonga o tempo de vida médio das substâncias vasoativas (calicreína, bradicinina).

Os inibidores de proteases atuam como substituto químico do pulmão na sua função de bloqueio das substâncias vasoativas. Considerando o sistema fibrinolítico-coagulação como um complexo em equilíbrio, sujeito às mesmas regras da homeostasia, como em outros sistemas orgânicos, compreende-se que o aumento funcional de um dos sistemas traz como conseqüência o aumento compensatório do outro, com a finalidade de repor o equilíbrio.

As alterações deste equilíbrio homeostático, seja do tipo hemorrágico, seja do tipo trombolítico, só serão possíveis quando a exacerbação de um sistema suplantar a capacidade compensatória do outro.

A terapia ideal será aquela capaz de repor as condições de equilíbrio, pois o bloqueio farmacológico de um dos sistemas, somente, condicionará a hiperfunção relativa do mecanismo contralateral, levando a um novo desequilíbrio, com predomínio do sistema contralateral. No caso de hemorragia hiperfibrinolítica, o sistema coagulatório é compensatoriamente hiperativo. O bloqueio específico apenas do sistema fibrinolítico tornará o problema inicialmente hemorrágico em outro, de grande risco trombotico. É a partir desse ponto de vista que os inibidores naturais de proteases têm vantagens, pois possuem a capacidade de neutralizar simultaneamente o sistema fibrinolítico e o pró-coagulante.

Esta é uma diferença farmacológica fundamental em relação aos inibidores sintéticos. Na literatura relatam-se casos de hemorragia fibrinolítica que, tratados maciçamente com inibidores sintéticos, tornaram-se quadros tromboticos. Por esta razão, indicamos nas cirurgias cardíacas com circulação extracorpórea exclusivamente os inibidores naturais de proteases.