

**EDUESLEY SANTANA SANTOS**

**N-acetilcisteína na prevenção da lesão renal aguda em pacientes com  
doença renal crônica submetidos à cirurgia eletiva de revascularização  
miocárdica : estudo prospectivo, randomizado e duplo-cego**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para obtenção do  
título de Doutor em Ciências

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. José Jayme Galvão de Lima

**São Paulo  
2013**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Santos, Eduesley Santana

N-acetilcisteína na prevenção da lesão renal aguda em pacientes com doença renal crônica submetidos à cirurgia eletiva de revascularização miocárdica : estudo prospectivo, randomizado e duplo-cego / Eduesley Santana Santos. -- São Paulo, 2013.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.  
Programa de Cardiologia.

Orientador: José Jayme Galvão de Lima.

Descritores: 1.Acetilcisteína 2.Lesão renal aguda/fisiopatologia  
3.Revascularização miocárdica 4.Estresse oxidativo 5.Insuficiência renal crônica  
6.Estudos prospectivos 7.Ensaio clínico controlado aleatório

USP/FM/DBD-179/13

## **Dedicatória**

**Aos meus pais Pedro e Fátima pelo amor  
incondicional e pelo exemplo de luta e de fé.**

## **Agradecimentos**

A Deus pela força e pela luz necessárias para transpor os obstáculos encontrados no decorrer do trabalho.

Ao Prof. Dr. José Jayme Galvão de Lima, por ter acreditado que eu seria capaz de realizar este trabalho e por estar por perto nos momentos de dúvida. Muito obrigado pela paciência de pai e pelos ensinamentos que levarei comigo sempre.

Ao Prof. Dr. Luís Henrique Wolff Gowdak, co-orientador deste trabalho, pelas sugestões e pelo apoio durante a realização desta tese.

À equipe da Unidade de Hipertensão do InCor, Profa. Dra. Fernanda M. C. Colombo, Prof. Dr. Heno F. Lopes, Prof. Dr. Luís A. Bortolotto, Dr. Dante Giorgi e Dr. Luciano Drager, exemplos de pesquisadores que de forma direta ou indireta contribuíram para o meu aprimoramento como pesquisador.

À Silvia Garrubo, pelo carinho e amizade e pela disposição para ajudar sempre que precisei.

À Márcia e Djanira, secretárias da Unidade de Hipertensão, por me ajudarem sempre que precisei.

À Valéria Hong, criatura iluminada, exemplo de determinação e coragem, com quem pude contar diversas vezes durante a execução deste trabalho.

À Profa. Dra. Ludhmila Hajjar e à Profa. Dra. Filomena Galas, coordenadoras das UTIs Cirúrgicas do InCor, por permitirem a realização do trabalho nessa unidade e pelos ensinamentos.

Aos enfermeiros (Adriano, Ana Lúcia, Cecília, Alaíde e Lucimar) da equipe de liderança da UTI cirúrgica do InCor que compreenderam as minhas necessidades e em diversos momentos viabilizaram as condições para a execução desta pesquisa.

Ao Dr. Fábio Gaiotto pela contribuição direta como cirurgião do estudo.

À Creusa Dal Bó pelas orientações e análise estatística.

Às equipes médica e de enfermagem das UTIs Cirúrgicas I e II, pelo aprendizado e pelo apoio ímpar durante a realização deste trabalho.

Às minhas amigas Rita Vieira, Rosa Adriana, Naurly Danzi, Jaqueline Jardim, Eylis Rejane, Eliana Franco, Suely Zefferino, Ticiane, Denise Carmine, Juliana Gil e Rebeca Harmom que de maneira direta ou indireta me deram o apoio necessário para realização do trabalho.

Aos meus amigos Edivaldo, Suzana e Geodete pelo apoio, que mesmo à distância, foi fundamental.

Aos meus amigos Marco e Jane que são mais que amigos, são irmãos, companheiros em todos os momentos, sempre por perto quando precisei e por me incentivar todos os dias.

Às minhas avós e às minhas tias pelo amor incondicional.

Aos meus irmãos, minhas cunhadas e meus sobrinhos pelo carinho que transmitem mesmo distantes.

Ao InCor, que me acolheu e onde consegui aprender e me especializar profissional e cientificamente, desde o momento que aqui entrei.

Aos pacientes que foram a motivação para o desenvolvimento deste trabalho.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado do *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentações de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A. L. Fredi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª Ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

## SUMÁRIO

### LISTA DE FIGURAS

### LISTA DE TABELAS

### RESUMO

### SUMMARY

<b>1. Introdução</b> .....	2
1.1. Fatores de risco da LRA na cirurgia cardiovascular.....	3
1.2. Conceito e Diagnóstico da LRA .....	5
1.3. Fisiopatogenia da LRA.....	6
1.4. Estresse Oxidativo .....	10
1.5. Prevenção da LRA .....	11
1.6. N-acetilcisteína na prevenção da LRA .....	13
<b>2. Objetivos</b> .....	20
<b>3. Métodos</b> .....	22
3.1. Delineamento do Estudo .....	22
3.1.1 Critérios de Inclusão .....	24
3.1.2 Critérios de Exclusão .....	24
3.2. Pacientes .....	25
3.3. Sequência de Procedimentos do Estudo .....	26
3.4. Procedimento Cirúrgico.....	26
3.5. Avaliação Clínica e Laboratorial .....	28
3.6. Critérios Diagnósticos .....	31
3.7. Desfechos .....	33
3.7.1. Primário.....	33
3.7.2. Secundários .....	33
3.8. Análise Estatística .....	34

<b>4. Resultados</b> .....	36
4.1. Características demográficas e clínicas dos pacientes estudados .....	36
4.2. Desfechos.....	39
4.2.1. Desfecho Primário.....	39
4.2.2. Desfechos Secundários .....	42
4.2.2.1. Comportamento da Cistatina C, Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin (NGAL), Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) e Proteína C Reativa (PCR).....	45
<b>5. Discussão</b> .....	52
<b>6. Conclusões</b> .....	61
<b>7. Limitações</b> .....	63
<b>8. Referências</b> .....	65

## LISTA DE FIGURAS

<b>Quadro 1.</b> Sistema de Classificação da Lesão Renal Aguda AKIN.....	6
<b>Figura 1.</b> Fluxograma de Elegibilidade e Inclusão no Estudo .....	25
<b>Figura 2.</b> Sequência de procedimentos durante a avaliação dos pacientes. ...	26
<b>Figura 3.</b> Incidência do desfecho primário – lesão renal aguda definida pelo critério AKIN (estágios 1, 2 ou 3) nos grupos Controle e NAC .....	40
<b>Figura 4.</b> Estimativas por Kaplan-Meyer da sobrevida durante a hospitalização, segundo os grupos de tratamento .....	43
<b>Figura 5.</b> Evolução da Cistatina C ao longo do tempo nos grupos Controle e NAC .....	45
<b>Figura 6.</b> Evolução do NGAL (ng/mL) ao longo do tempo nos grupos Controle e NAC. Análise estatística realizada após transformação logarítmica dos dados .....	47
<b>Figura 7.</b> Evolução da PCR ao longo do tempo nos grupos Controle e NAC. Análise estatística realizada após transformação logarítmica dos dados .....	48
<b>Figura 8.</b> Evolução do TBARS ao longo do tempo de estudo nos grupos Controle e NAC. Análise estatística realizada após transformação logarítmica dos dados. ....	49

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Risco Pré-Operatório, Características Demográficas e Ecocardiográficas e Medicação Basal - HCFMUSP - 2009 a 2012.....	37
<b>Tabela 2</b> - Características Laboratoriais Basais - HCFMUSP - 2009 a 2012...38	
<b>Tabela 3</b> - Características intra-operatórias - HCFMUSP - 2009 a 2012....39	
<b>Tabela 4</b> - Incidência do Desfecho Primário - HCFMUSP - 2009 a 2012 ...40	
<b>Tabela 5</b> - Preditores de Lesão Renal Aguda - HCFMUSP - 2009 a 2012 ....41	
<b>Tabela 6</b> - Interação entre os efeitos da N-acetilcisteína (NAC) e da circulação extracorpórea (CEC) na incidência de LRA - HCFMUSP - 2009 a 2012.....	41
<b>Tabela 7</b> - Incidência e causa de morte, nos dois grupos, de acordo com o tempo (dias) de pós-operatório - HCFMUSP - 2009 a 2012...43	
<b>Tabela 8</b> - Incidência e causa de eventos cardiovasculares, nos dois grupos, de acordo com o tempo (dias) de pós-operatório - HCFMUSP - 2009 a 2012.....	44
<b>Tabela 9</b> - Comparação dos valores de Cistatina C entre os pacientes que desenvolveram e os que não desenvolveram LRA - HCFMUSP - 2009 a 2012.....	46
<b>Tabela 10</b> - Comparação dos valores do NGAL entre os pacientes que desenvolveram e os que não desenvolveram LRA - HCFMUSP - 2009 a 2012.....	47
<b>Tabela 11</b> - Comparação dos valores da PCR ao longo do tempo nos grupos Controle e NAC (mediana) - HCFMUSP - 2009 a 2012....	48
<b>Tabela 12</b> - Comparação dos valores do TBARS ao longo do tempo nos grupos Controle e NAC (mediana) - HCFMUSP - 2009 a 2012....	49
<b>Tabela 13</b> - N-acetilcisteína e função renal pós-cirurgia cardiovascular: estudos prospectivos, aleatorizados e cegos - HCFMUSP - 2009 a 2012.....	54

## RESUMO

Santos ES. *N-acetilcisteína na prevenção da lesão renal aguda em pacientes com doença renal crônica submetidos à cirurgia eletiva de revascularização miocárdica: estudo prospectivo, randomizado e duplo-cego* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013. 75p.

**Introdução:** Pacientes com doença renal crônica (DRC) têm maior probabilidade de desenvolver complicações no pós-operatório. O efeito da N-acetilcisteína (NAC) na prevenção da lesão renal aguda (LRA) associada à cirurgia cardíaca é controverso. As principais causas desta controvérsia residem na não uniformidade dos critérios para definir a LRA e nas doses da NAC empregadas. **Objetivos:** O objetivo primário foi avaliar o efeito renoprotetor da NAC em pacientes com DRC durante as primeiras 72 horas depois de cirurgia de revascularização miocárdica eletiva, recorrendo à classificação AKIN, um critério de diagnóstico internacionalmente validado, para definir a LRA e utilizando doses de máximas de NAC sancionadas para uso clínico. Os objetivos secundários foram verificar o impacto do tratamento sobre o estresse oxidativo, morbimortalidade, necessidade de diálise durante a internação e sobre outros marcadores envolvidos na fisiopatologia da LRA. **Métodos:** estudo prospectivo e duplo-cego em 70 pacientes com DRC estágios 3 e 4 submetidos à revascularização miocárdica cirúrgica eletiva aleatorizados para receber NAC 150 mg/kg IV (dose de ataque) iniciada 2 h antes da cirurgia, seguida por 50 mg/kg IV em 6 horas (grupo NAC) ou solução de NaCl 0,9% IV (grupo Controle). **Resultados:** A incidência da LRA foi reduzida no grupo NAC (57,1% versus 28,6%,  $p=0,016$ ). O não uso da NAC (RR= 5,98 IC 95% -2,86 a -0,28,  $P= 0,015$ ) e a circulação extracorpórea (CEC) (RR= 6,39, IC 95% -2,98 a -0,34,  $p= 0,012$ ) foram preditores independentes da LRA. Em pacientes tratados com CEC a NAC reduziu o risco de LRA de 63% para 46%. Nos Controles o estresse oxidativo foi elevado ( $p= 0,01$ ) nas 72 h de pós-operatório. No grupo NAC esta resposta foi abolida. Outros marcadores da LRA foram também mais elevados nos Controles: Cistatina C ( $p< 0,001$ ) e Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin , NGAL ( $p= 0,002$ ). Os níveis de proteína C reativa e a incidência da morbimortalidade foram semelhantes entre os grupos. Nenhum paciente necessitou de diálise. **Conclusões:** A NAC, empregada em doses máximas, reduz a incidência de LRA em pacientes com DRC submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica, abole a resposta do estresse oxidativo associado à ocorrência da LRA e reduz o impacto negativo da CEC na função renal.

**Descritores:** 1.Acetilcisteína 2.Lesão renal aguda/fisiopatologia 3.Revascularização miocárdica 4.Estresse oxidativo 5.Insuficiência renal crônica 6.Estudos prospectivos 7.Ensaio clínico controlado aleatório (ClinicalTrials.gov number, NCT01359722)

## SUMMARY

Santos ES. *N-acetylcysteine in the prevention of acute kidney injury in patients with chronic kidney disease undergoing elective coronary artery bypass graft surgery: a prospective, randomized, and double-blind controlled trial* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo", SP (Brazil) 2013. 75p.

**Introduction:** Post-operative complications are frequent among patients with chronic kidney disease (CKD). The renoprotective effect of N-acetylcysteine (NAC) in patient undergoing myocardial revascularization is controversial, mainly because of differences in the doses of NAC administered and to different criteria to define acute kidney injury (AKI). **Objectives:** The primary objective was to evaluate the renoprotective effect of NAC in patients with CKD, stages 3 or 4, undergoing elective coronary artery bypass graft (CABG), with or without cardiopulmonary bypass (CPB), during the first 72 h post-operative. We used a validated criterion to define AKI (AKIN classification) and a maximum IV dose of NAC sanctioned for clinical use. The secondary objectives were to assess the effect of NAC on oxidative stress and other surrogate markers of renal lesion (C Cystatin and Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin, NGAL) and on morbimortality and the need of post-operative dialysis during hospitalization. **Methods:** this was a prospective double-blind study in 70 stages 3 or 4 CKD patients undergoing CABG randomized to receive either NAC 150 mg/kg IV (induction) started 2 h before surgery, followed by 20 mg/kg IV for 6 h (group NAC) or 0.9 saline IV (group Control). **Results:** The incidence of AKI was reduced in the group NAC (57.1% versus 28.6%,  $p=0.016$ ). Non use of NAC (RR= 5.98 95% IC -2.86 to -0.28,  $p= 0.015$ ) e CPB (RR= 6.39, 95% IC -2.98 to -0.34,  $p= 0.012$ ) were independent predictors of AKI. NAC also reduced the incidence of AKI from 63% to 46% in patients treated with CPB. Oxidative stress was increased in the Control group ( $p= 0.01$ ) while it was abolished in patients receiving NAC. Circulating C Cystatin ( $p< 0.001$ ) and NGAL ( $p= 0.002$ ) were also reduced by NAC. C-reactive protein and the incidence of death and cardiovascular events were not influenced by NAC. No patient needed dialysis during hospitalization. **Conclusions:** Maximum IV doses of NAC reduces the incidence of AKI in patients with pre-existing CKD undergoing elective CABG, abolishes oxidative stress and mitigate the negative effect of CPB on renal function.

**Descriptors:** 1.Acetylcysteine 2.Acute kidney injury 3.Myocardial revascularization 4.Oxidative stress 5.Renal insufficiency, chronic 6.Prospective studies 7.Randomized controlled trial (ClinicalTrials.gov number, NCT01359722)

# **1 Introdução**

## 1. **Introdução**

A lesão renal aguda (LRA) é uma complicação grave, frequente após cirurgia cardíaca, que se associa com aumento da morbidade e mortalidade e também com maior tempo de permanência em Unidade de Terapia Intensiva (UTI)<sup>(1)</sup>. A incidência de disfunção renal associada à cirurgia cardiovascular varia amplamente entre diversos estudos. De acordo com Hobson<sup>(2)</sup> et al. pode atingir 37% dos pacientes submetidos à cirurgia coronária, 49% em cirurgia valvar e 55% na cirurgia da aorta. É também mais comum quando se utiliza circulação extracorpórea (CEC). A prevalência de LRA após cirurgia cardíaca com CEC atinge 35% em algumas séries e dentre os pacientes que desenvolvem LRA após o procedimento cirúrgico aproximadamente 1,5% necessitam de tratamento dialítico<sup>(3)</sup>. Nos casos em que os pacientes necessitam de hemodiálise, a taxa de mortalidade pode atingir níveis acima de 60%<sup>(4)</sup>.

Outros autores, no entanto, observaram taxas menores de LRA associada à cirurgia cardíaca. Chertow<sup>(5)</sup> avaliou o desenvolvimento de LRA no período pós-operatório de revascularização miocárdica (RM) e troca valvar. LRA foi definida como alteração da função renal grave, suficiente para tornar necessária a indicação de diálise até 30 dias após a operação. A incidência de LRA foi 0,9% nos pacientes submetidos à RM e 2% naqueles submetidos à troca valvar. A mortalidade hospitalar em 30 dias no grupo de pacientes com LRA foi 63,7%, enquanto que no grupo que não desenvolveu a complicação a taxa de óbito foi 4,3%.

A grande variação na incidência da LRA em diferentes estudos provavelmente reflete diferenças nos critérios adotados para definir a LRA. Seja como for, fica evidente que, apesar das divergências quanto à incidência da LRA após cirurgia cardíaca, quando esta ocorre, a taxa de mortalidade é muito elevada.

### **1.1. Fatores de risco da LRA na cirurgia cardiovascular**

Os fatores de risco de disfunção renal associados à cirurgia cardiovascular não diferem muito dos observados após outros procedimentos cirúrgicos de grande ou médio porte. Em um estudo multicêntrico realizado na Espanha com o objetivo de determinar a incidência, etiologia e fatores de risco relacionados à LRA os pesquisadores observaram que as principais causas da LRA hospitalar foram os eventos isquêmicos renais, utilização de drogas nefrotóxicas, cirurgias e utilização de contraste iodado<sup>(6)</sup>.

Diversos autores<sup>(1, 7-9)</sup> demonstraram que idade e diabetes são fatores de risco para o desenvolvimento de LRA após cirurgia cardíaca, possivelmente pelo comprometimento da reserva renal e consequente baixa tolerância às alterações hemodinâmicas e eletrolíticas encontradas durante e após procedimentos cirúrgicos. Durante a cirurgia cardíaca, isquemia prolongada, hipotermia, perda do diferencial pressórico com o sistema não pulsátil da circulação extracorpórea (CEC) e as alterações da coagulação contribuem para o desenvolvimento da LRA no período pós-operatório<sup>(10)</sup>. Outros importantes fatores de risco são cirurgia de urgência

---

ou reoperação, sangramento, uso de balão intra-aórtico pré-operatório, insuficiência cardíaca e doença pulmonar obstrutiva<sup>(11-13)</sup>.

O impacto da CEC na ocorrência de disfunção renal pós cirurgia cardíaca é particularmente relevante, atingindo mais de 30% dos pacientes<sup>(8)</sup>. Obesidade, comorbidades cardiovasculares e uso de certas drogas, tais como antiinflamatórios, também aumentam o risco de LRA pós-operatório<sup>(14)</sup>.

Outro importante fator de risco para o desenvolvimento de LRA é a presença de disfunção renal pré-operatória. A incidência de LRA dialítica em pacientes cirúrgicos pode chegar a 20% naqueles com valores pré-operatórios de creatinina sérica (Cr) entre 2 e 4 mg/dl e aproximadamente a 30% nos pacientes com Cr superiores a 4 mg/dl<sup>(15-17)</sup>. De acordo com Palomba *et al.*<sup>(18)</sup> os pacientes com Cr > 1.2 mg/dl apresentam risco duas vezes maior de desenvolver LRA após cirurgia cardíaca. Além disso, tem-se demonstrado que aumento da Cr maior do que 0.5 mg/dl no pós-operatório de cirurgia cardíaca contribui para o aumento da mortalidade em 30 dias após o procedimento cirúrgico<sup>(19)</sup>.

Recentemente, um trabalho retrospectivo,<sup>(20)</sup> realizado em conjunto pelas Unidades de Hipertensão e de Coronariopatia Crônica do InCor, revelou que a taxa de mortalidade intra-hospitalar de pacientes submetidos à revascularização miocárdica cirúrgica eletiva era significativamente elevada nos pacientes com creatinina sérica pré-operatória > 1,3 mg/dL, com uma razão de risco da ordem de 3,8, sendo que, em muitos casos, a piora da função renal desempenhou um papel relevante no desenlace. Estes resultados nos levaram a buscar alternativas para reduzir a

mortalidade deste grupo de pacientes adotando medidas capazes de prevenir a instalação da lesão LRA no pós-operatório de pacientes com disfunção renal pré-operatória.

## **1.2. Conceito e Diagnóstico da LRA**

Classicamente, define-se a LRA como perda abrupta da função renal resultando na incapacidade dos rins em manter a homeostase metabólica, culminando no acúmulo de substâncias nitrogenadas, distúrbios hidroeletrólíticos e ácido-básicos e na perda da capacidade de diluir ou de concentrar a urina<sup>(21-23)</sup>. Este conceito é pouco preciso por não definir, com exatidão, o que se deve entender por “perda abrupta da função renal”. Por este motivo, outras definições foram introduzidas desde uma diminuição de 20% na taxa de filtração glomerular (TFG) ou um aumento da creatinina sérica de 25%, até a necessidade de tratamento dialítico. A falta de um conceito único e universalmente aceito dificulta o conhecimento da verdadeira incidência de LRA, uma vez que esta pode variar de acordo com a definição utilizada<sup>(24, 25)</sup>.

Recentemente, foi proposta pelo Acute Kidney Injury Network (AKIN), uma classificação para padronizar a definição da LRA. A classificação AKIN define a LRA como uma redução abrupta (em 48 horas) na função renal caracterizada por elevação absoluta na Cr maior ou igual a 0.3 mg/dL ( $\geq 26.4 \mu\text{mol/L}$ ), um aumento percentual na Cr maior ou igual a 50% (1.5 vezes a Cr basal), ou uma redução no débito urinário para menos

que 0.5 ml/kg/h por seis horas ou mais<sup>(26)</sup>. A descrição dos estágios de gravidade da LRA segundo o AKIN encontra-se no Quadro 1.

**Quadro 1.** Sistema de Classificação da Lesão Renal Aguda segundo o AKIN

Estágio	Creatinina Sérica	Débito Urinário
1	Aumento na Cr maior ou igual a 0.3 mg/dl ( $\geq 26.4 \mu\text{mol/l}$ ) ou aumento de 150% a 200% (1.5 a 2 vezes) da Cr basal	Menor que 0.5 ml/kg/h por 6h
2	Aumento na Cr maior que 200% a 300% ( $> 2$ a 3 vezes) da Cr basal	Menor que 0.5 ml/kg/h por 12h
3	Aumento da Cr maior que 300% ( $> 3$ vezes) da Cr basal (ou Cr maior ou igual a 4.0 mg/dl [ $\geq 354 \mu\text{mol/l}$ ] com uma elevação aguda de 0.5 mg/dl [ $44 \mu\text{mol/l}$ ])	Menor que 0.3 ml/kg/h por 24h ou anúria por 12h

Adaptado do Crit Care. 2007; 11(2):R31.

Os pacientes são classificados pelo AKIN em um dos três estágios de acordo com as alterações na Cr e no débito urinário. Sendo assim, a definição proposta pelo AKIN torna-se uma ferramenta mais sensível na avaliação da LRA, possibilitando a realização do diagnóstico mais precocemente e permitindo uma melhor comparação dos resultados originários de diferentes estudos. Neste trabalho, a LRA foi definida como AKIN estágio 1, 2 ou 3.

### **1.3. Fisiopatogenia da LRA**

A LRA é um fenômeno complexo onde fatores hemodinâmicos, celulares, moleculares e metabólicos interagem. Alterações hemodinâmicas, compreendendo vasoconstrição e redução da perfusão

renal, desempenham um papel central na patogenia da LRA. Por outro lado, em que pese o enorme número de trabalhos, o nosso entendimento sobre os mecanismos celulares e moleculares da LRA permanece incompleto. Sabemos, no entanto, que as alterações mais evidentes na LRA são a queda da filtração glomerular e lesões nas células tubulares renais. As alterações patológicas nas células tubulares renais ocorrem basicamente em virtude da isquemia e hipóxia com conseqüente depleção de ATP, comprometimento do metabolismo aeróbico, geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e aumento do cálcio intracelular que, por sua vez, levam a ativação de fatores citopáticos e morte celular<sup>(27, 28)</sup>.

Na prática clínica o biomarcador mais utilizado para avaliar a TFG é a creatinina. No entanto, ela apresenta baixa sensibilidade para a detecção de reduções moderadas na função renal aumentando, apenas, quando o ritmo de filtração glomerular cai abaixo de 50% do normal. Além disso, fatores como a idade, o sexo, a raça e a massa muscular podem alterar as concentrações plasmáticas da creatinina diminuindo a sua especificidade, retardando o diagnóstico e intervenções, bem como subestimando a gravidade da LRA<sup>(29-31)</sup>. Uma das vantagens da classificação AKIN é a combinação da concentração sérica da creatinina com o débito urinário aumentando a precisão do diagnóstico da LRA.

Neste estudo, além da AKIN, utilizamos a Cistatina C e a “Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin” (NGAL), biomarcadores amplamente utilizados em estudos clínicos e experimentais e que se mostraram promissores no diagnóstico precoce da LRA. O objetivo foi validar os

---

resultados obtidos com a classificação AKIN por dois métodos independentes capazes de detectar alterações agudas da função renal.

A Cistatina C é uma proteína não glicosilada com peso molecular de 13 kDa, pertencente à família das cisteinoproteases. Consiste de 120 aminoácidos e é produzida por todas as células nucleadas. Mesmo na presença de inflamação sua taxa de produção não se altera<sup>(32-34)</sup>.

A Cistatina C é livremente filtrada pelos glomérulos devido ao seu baixo peso molecular, sendo a seguir quase que totalmente reabsorvida e metabolizada nos túbulos proximais. A produção da Cistatina C pelo organismo é constante, o que faz com que a sua concentração na circulação dependa, exclusivamente, do ritmo de filtração glomerular, razões pelas quais a Cistatina C foi recentemente proposta como um marcador endógeno de função renal mais sensível que a creatinina, permitindo detectar alterações da filtração glomerular de maneira mais precoce que a depuração da creatinina<sup>(34)</sup>.

A NGAL é uma proteína de baixo peso molecular (25 kDa) membro da superfamília lipocalina, composta de 178 aminoácidos ligados covalentemente à gelatinase<sup>(35)</sup>.

Em condições basais, na ausência de LRA, a NGAL é produzida em baixos níveis por diferentes tecidos, incluindo o néfron distal. A NGAL circulante é filtrada no glomérulo, absorvida e metabolizada no túbulo proximal. Em virtude disso, os níveis de NGAL detectados no plasma e na urina são normalmente reduzidos. Durante a LRA a expressão da NGAL é induzida no epitélio do néfron distal, resultando em níveis elevados de NGAL no plasma e na urina<sup>(36)</sup>.

A associação entre NGAL e LRA foi identificada pela primeira vez utilizando-se um modelo de isquemia e reperfusão em roedores. Neste modelo, o RNA mensageiro e os níveis séricos e urinários do NGAL aumentam acentuadamente algumas horas após a indução de isquemia e reperfusão, 24 a 48 horas antes do aumento da creatinina sérica<sup>(37)</sup>. Considerando que aumento do NGAL é interpretado como evidência de lesão tubular renal, é de esperar que manobras que impedem ou reduzem a incidência da LRA também impeçam a elevação do NGAL.

Existem atualmente evidências bastante convincentes do importante papel das EROs na patogênese da LRA<sup>(28, 38)</sup>. As EROs causam danos nas células tubulares pela oxidação de proteínas, peroxidação de lípidos, alterações no DNA e indução de apoptose. Em vários modelos em animais, substâncias que removem ou neutralizam (“scavengers”) EROs, incluindo N-Acetilcisteína, protegem contra a LRA de origem isquêmica. Está bem estabelecido que a circulação extra-corpórea aumenta o estresse oxidativo<sup>(39)</sup> e que doses maciças de NAC reduz a geração de EROs associada à CEC<sup>(40)</sup>. No entanto, até esta data, estudos em seres humanos não têm sido conclusivos quanto à eficácia da NAC na prevenção de disfunção renal pós cirurgia cardíaca, com resultados variáveis ou contraditórios.

Inflamação desempenha um papel importante na LRA<sup>(38, 41)</sup>. Lesão do endotélio vascular aumenta a expressão de moléculas de adesão que facilitam a interação entre o endotélio, leucócitos e plaquetas, especialmente durante a fase de reperfusão. Estas alterações iniciam a resposta inflamatória que perpetua e amplifica as lesões teciduais

causadas pela isquemia e apoptose. Potentes mediadores da inflamação são liberados pelo endotélio, leucócitos e pelas células tubulares, incluindo TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  e TGF- $\beta$ . Estas citocinas são poderosos indutores de EROs. Portanto, manobras capazes de modular a resposta inflamatória podem ser benéficas na prevenção e tratamento da LRA.

#### **1.4. Estresse Oxidativo**

O estresse oxidativo é definido como um desequilíbrio entre uma excessiva geração de compostos oxidantes e a insuficiência dos mecanismos de defesa antioxidantes. Este desequilíbrio resulta no acúmulo de EROs que funcionam como mediadores entre o estresse oxidativo e as lesões tissulares. O estresse oxidativo é um fator relevante na mortalidade dos pacientes com doença renal crônica e é mediador de muitas complicações, principalmente cardiovasculares e neurológicas. Encontra-se presente em pacientes com disfunção renal leve e moderada, bem como naqueles que já necessitam de diálise<sup>(42-44)</sup>.

As EROs são também importantes na fisiopatogenia da LRA<sup>34,35</sup>. Por este motivo é de interesse avaliar se a redução dos níveis de EROs se associa com melhora da função renal nestas condições. Existem vários métodos de detectar EROs em fluidos biológicos. No presente trabalho utilizamos um método baseado na identificação de produtos de peroxidação que se formam na presença de EROs. Este método utiliza a propriedade do ácido tiobarbitúrico de reagir com produtos resultantes da

oxidação de lípidos. Os produtos das reações entre o ácido tiobarbitúrico e lípidos oxidados (thiobarbituric acid reactive substances - TBARS) podem ser reconhecidos por métodos colorimétricos e utilizados como índice de estresse oxidativo<sup>(45)</sup>.

### **1.5. Prevenção da LRA**

A prevenção da LRA depende, basicamente, da manutenção de perfusão renal adequada. Sabe-se que a hidratação reduz o risco do paciente desenvolver LRA<sup>(46)</sup>. Normalmente, em pacientes de pós-operatório de cirurgia cardíaca, o problema é hemodiluição e excesso de fluido extracelular e não a falta de volume, de tal modo que a desidratação é um problema menor. No entanto, a hipotensão é uma questão diferente e exige correção agressiva para a manutenção da perfusão renal e, portanto, da preservação da sua função. Embora, em voluntários normais, os rins tenham se mostrado capazes de autorregular o fluxo sanguíneo com a manutenção da pressão arterial média entre 60 e 120 mmHg, é duvidoso se este mecanismo opera com igual eficiência em pacientes que foram expostos recentemente a longos períodos de hipotermia e fluxo sanguíneo não pulsátil<sup>(47)</sup>. Por este motivo, manobras destinadas a manter o índice cardíaco acima de 2 l/min/m<sup>2</sup> no período pós-operatório imediato é uma estratégia padrão nas unidades de terapia intensiva cirúrgica cardiovascular<sup>(48)</sup>.

O controle glicêmico no período pós-operatório também é considerado uma medida importante para a prevenção da LRA em pacientes submetidos à cirurgia cardíaca. Um estudo randomizado feito com 1548 pacientes críticos, sendo a maioria desses submetidos à cirurgia cardíaca (63%), mostrou que no grupo onde o controle glicêmico era intensivo (glicemia entre 80-110) comparado com o grupo convencional (glicemia entre 180-200) houve menor incidência do uso de terapia de substituição renal e melhora da sobrevida<sup>(49)</sup>.

A maioria dos pacientes submetidos à cirurgia cardíaca recebe diuréticos de alça em algum momento da sua internação e alguns continuam recebendo após a alta hospitalar. Estudos mostram que a infusão contínua de diuréticos está associada com melhores desfechos, do que a administração intermitente<sup>(50)</sup>. Kunt<sup>(51)</sup> et al. também mostraram que a infusão contínua de furosemida esteve associada com aumento do débito urinário e da depuração da creatinina no período pós-operatório de cirurgia cardíaca. No entanto, não existem dados convincentes que o uso de diuréticos reduz significativamente a incidência da LRA em cirurgia cardíaca. Por outro lado, administração de doses excessivas de diuréticos de alça pode acentuar a hipovolemia e contribuir para a instalação da LRA. Dentro da mesma linha, outras drogas como antibióticos, antiinflamatórios e inibidores do sistema renina-angiotensina, especialmente quando administrados em pacientes desidratados ou hipovolêmicos também favorecem a ocorrência da LRA e devem ser usados com prudência ou evitados.

Apesar da utilização rotineira das medidas acima no pós-operatório de cirurgia cardíaca a incidência de disfunção renal permanece elevada, particularmente nos pacientes de maior risco. Daí a necessidade de buscar alternativas mais eficazes de prevenir esta complicação.

### **1.6. *N-acetilcisteína na prevenção da LRA***

A NAC é um tiol, agente mucolítico e antioxidante precursor da L-cisteína e glutathiona reduzida nas células. É uma fonte de grupos sulfidril removedores de substâncias reativas com o oxigênio ( $\text{OH}^-$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), geradas pela reação dos peroxinitritos como NO e superóxidos<sup>(52, 53)</sup>. A NAC se contrapõe à disfunção endotelial, inflamação e fibrose e, em transplantes renais, reduz as lesões provocadas pelo tempo de isquemia do enxerto, diminuindo também os níveis do malondialdeído (outro marcador de estresse oxidativo) em pacientes renais crônicos<sup>(54, 55)</sup>.

NAC tem peso molecular 163,2 e é rapidamente absorvida quando administrada por via oral. No entanto, a droga sofre extensa metabolização no intestino e fígado e apenas uma pequena fração da sua forma nativa permanece na circulação sistêmica, sendo sua biodisponibilidade da ordem de 4 a 10%<sup>(56)</sup>. Por este motivo, muitos autores favorecem a sua administração por via endovenosa. A meia-vida plasmática da NAC é 2,15 horas e desaparece da circulação em 12 horas. No entanto, cerca de 40% da NAC continua a ser excretada na urina até 24 horas depois de administrada. Esta última característica sugere que a NAC pode

permanecer nos rins por mais tempo que em outros tecidos favorecendo a sua eficácia terapêutica.

A maior parte dos efeitos terapêuticos da NAC deriva da sua capacidade de estimular a síntese de glutatona reduzida, cuja concentração nas células diminui quando existe isquemia ou hipóxia. A glutatona reduzida inativa EROS e, desta maneira, reduz o estresse oxidativo.

Na prática clínica a primeira descrição do uso parenteral de altas doses da NAC foi no tratamento da intoxicação aguda por paracetamol, uma condição com elevada taxa de mortalidade por insuficiência hepática, por Prescott et al.<sup>(57)</sup> Nesse estudo, os pacientes que receberam altas doses de NAC por via endovenosa precocemente tiveram melhor prognóstico. Estes resultados foram posteriormente comprovados por numerosas investigações. Desde então, a intoxicação aguda por paracetamol continua sendo a principal indicação de uso clínico da NAC e a dose utilizada da NAC nesta condição é a dose máxima preconizada para uso clínico da droga (100 a 300 mg/Kg, dependendo da duração do tratamento)<sup>(58)</sup>. Os resultados encorajadores obtidos com a NAC na intoxicação por paracetamol, somados à sua baixa toxicidade, custo reduzido e aos efeitos benéficos exercidos sobre a função endotelial, inflamação e sobre a geração de EROs estimulou o seu uso em outras condições clínicas e experimentais acompanhadas de dano tissular agudo, como no infarto do miocárdio, acidente vascular encefálico, trauma, crises de falcização e em condições onde ocorre disfunção renal. Em um estudo

clínico com pacientes que preenchem os critérios para a síndrome hepatorenal, foi administrado, em infusão contínua, 150 mg/kg de NAC por duas horas, seguido de 100 mg/kg durante 5 dias. Observou-se que os pacientes apresentaram uma diminuição significativa nos níveis de Cr, bem como aumento do débito urinário<sup>(59)</sup>.

Uma das áreas onde o efeito da NAC tem sido mais avaliado é na prevenção da insuficiência renal associada ao emprego de meios de contraste iodados para estudos radiológicos. Em pacientes com disfunção renal prévia, submetidos à tomografia computadorizada, Tepel e cols<sup>(60)</sup> randomizaram 83 pacientes em dois grupos que receberam, respectivamente, solução salina com N-acetilcisteína (n=41) ou solução salina (grupo controle, n=42). Nesse estudo a definição de LRA utilizada foi um aumento de 0,5 mg/dl da Cr após 48h da administração do contraste. Houve redução estatisticamente significativa da Cr no grupo que recebeu a N-acetilcisteína, de  $2.5 \pm 1.3$  para  $2.1 \pm 1.3$  mg/dl, enquanto que no grupo controle a Cr aumentou de  $2.4 \pm 1.3$  para  $2.6 \pm 1.5$  mg/dl ( $p < 0,001$ ). Embora estes resultados tenham sido reproduzidos em outros estudos<sup>(61-63)</sup>, em muitos casos nenhum efeito da NAC na ocorrência da LRA por meios de contraste pode ser comprovado<sup>(64-66)</sup>. Desta forma, o assunto ainda é controverso.

Em cirurgia cardíaca a NAC também foi utilizada em alguns estudos com o propósito de avaliar o impacto desta droga na função renal dos pacientes. Em um ensaio clínico randomizado e controlado, 102 pacientes com disfunção renal no pré-operatório foram randomizados para receber

NAC (n=50), 600 mg via oral, duas vezes ao dia, totalizando 14 doses, sendo três dessas no pré-operatório, ou placebo (n=52). O desfecho primário foi a maior elevação da Cr em 7 dias depois do procedimento cirúrgico. O desfecho secundário foi o desenvolvimento de LRA definida como aumento da Cr em relação ao basal maior que 0,5 mg/dL ou  $\geq 25\%$ . Não houve diferença entre os grupos na análise dos desfechos<sup>(67)</sup>.

Outro ensaio clínico<sup>(68)</sup> randomizado com 60 pacientes, submetidos à cirurgia cardíaca (revascularização do miocárdio, cirurgia valvar ou cirurgia combinada), testou o efeito da NAC em alta dose (300 mg/kg), sendo a infusão iniciada no momento da indução anestésica, antes da incisão cirúrgica, na dose de 150 mg/kg em 15 minutos, seguidos de 50 mg/kg em 4 horas e 100 mg/kg por 20 horas (totalizando 24 horas de administração). A definição de LRA utilizada foi o aumento de 25% na Cr em qualquer tempo até o quinto dia de pós-operatório. Sessenta e um pacientes foram randomizados para dois grupos: NAC (n=31) ou placebo (n=30). A utilização da dose elevada da N-acetilcisteína neste estudo não se acompanhou de variação da Cr diferente da observada com placebo ( $64,5 \pm 91,2$  e  $38,0 \pm 42,4$   $\mu\text{mol/L}$ , respectivamente).

Sisillo et al.<sup>(69)</sup> avaliaram prospectivamente 254 pacientes com insuficiência renal crônica no pré-operatório, submetidos à cirurgia cardíaca, que foram randomizados para o grupo NAC (n=129) ou para o grupo placebo (n=127). LRA foi definida como aumento da Cr maior que 25% em relação ao valor basal observada no período de 72 horas após a cirurgia cardíaca. LRA se desenvolveu em 52% (n=65) no grupo controle e

40% (n=52) no grupo NAC (p=0,06). O risco relativo de LRA no grupo controle, comparado com o grupo NAC foi 1,60 (IC 95% 0,98 – 2,63, NS). A dose de NAC utilizada neste estudo foi 1200 mg 12/12 horas, começando imediatamente antes da cirurgia cardíaca.

Uma metanálise canadense avaliou o efeito renoprotetor da NAC em pacientes submetidos à cirurgia cardíaca<sup>(70)</sup>. Sete estudos aleatorizados e controlados compreendendo 1000 pacientes foram incluídos. Em nenhum estudo, avaliado isoladamente ou em conjunto na metanálise, foi possível documentar qualquer efeito renoprotetor significativo da NAC. A taxa de mortalidade e a necessidade de diálise também não foram influenciados pela medicação. É importante observar que a dose de NAC utilizada, a via de administração e o tempo de administração variaram amplamente entre os estudos indo desde 600 mg por via oral no pré-operatório até 300 mg/kg endovenosa em 20 horas, durante e após a cirurgia.

Do que foi exposto acima fica evidente que a utilidade do uso sistêmico da NAC, exceto nos casos de intoxicação aguda por paracetamol, ainda precisa ser melhor avaliada, em que pese o óbvio potencial terapêutico da droga. Particularmente, ainda existem dúvidas quanto ao efeito renoprotetor da NAC e, em caso dele existir, qual é a sua intensidade e provável mecanismo de ação. A nosso ver, uma das dificuldades de comparar dos achados de diferentes estudos resulta da não standardização da dose, via de administração, intervalo de tempo entre a administração da NAC e a exposição ao agente nocivo e os critérios utilizados para definir a LRA. Estas dificuldades existem mesmo quando

levamos em conta apenas os trabalhos bem conduzidos, com número adequado de pacientes, com grupo controle e, de preferência, aleatorizados. Ao conceber a atual investigação, além de planejarmos um estudo aleatorizado e com grupo controle, tivemos o cuidado de selecionar a dose máxima da NAC sancionada para uso clínico, administrada por via parenteral antes e durante o procedimento cirúrgico, definir com clareza os desfechos e utilizar ferramentas suficientemente sensíveis para detectar alterações na função renal em um grupo de pacientes de alto risco de desenvolver LRA no pós-operatório de ato cirúrgico complexo. Além disto, também exploramos a associação entre o uso da NAC e os níveis de marcadores de lesão renal, inflamação e de estresse oxidativo que poderiam estar envolvidos no eventual efeito renoprotetor da droga.

Dessa forma, realizamos um estudo com o propósito de verificar o possível efeito renoprotetor da dose máxima de N-acetilcisteína, sancionada para uso em humanos, comparada a placebo, em pacientes com doença renal crônica estágios 3 e 4 submetidos à cirurgia eletiva de revascularização miocárdica.

## **2 Objetivos**

## **2. Objetivos**

- 2.1. Determinar o possível efeito renoprotetor da N-acetilcisteína em pacientes com doença renal crônica, estágios 3 e 4, submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica eletiva pela avaliação seriada da função renal.
- 2.2. Avaliar se o tratamento reduz mortalidade, eventos cardiovasculares, a necessidade de diálise e se interfere com os níveis de Cistatina C e NGAL e com os marcadores de estresse oxidativo e inflamação.

## **3 Métodos**

### **3. Métodos**

#### **3.1. Delineamento do Estudo**

O estudo foi realizado no Instituto do Coração (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). Trata-se de um estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego e controlado por placebo envolvendo 70 pacientes com doença renal crônica estágios 3 e 4 com indicação de cirurgia de revascularização miocárdica eletiva. Os pacientes foram aleatorizados para uma das estratégias de tratamento: grupo Controle ou grupo N-acetilcisteína (intenção de tratar). A lista de aleatorização foi gerada por computador.

O protocolo de pesquisa e o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) foram submetidos à Comissão Científica do Instituto do Coração e aprovados pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do HCFMUSP em sessão de 07 de outubro de 2009, sob o número 0992/09 Apêndices A e B). Todos os participantes assinaram o TCLE. O estudo foi registrado no ClinicalTrials.gov sob o identificador NCT01359722.

O pesquisador realizou visitas diárias à enfermaria da unidade clínica de coronariopatia crônica do InCor do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os pacientes elegíveis para participarem do estudo foram informados acerca do protocolo de estudo e aqueles que manifestaram interesse em participar

assinaram o TCLE. Todas as cirurgias foram realizadas pelos cirurgiões envolvidos no estudo.

A lista de randomização foi feita a partir de um programa de computador que gerou uma série de números randômicos de acordo com a estratégia de tratamento.

Os pacientes, o anestesista que administrou a NAC no centro cirúrgico, o cirurgião e os pesquisadores envolvidos na análise dos desfechos foram mantidos “cegos” quanto à composição dos grupos, isto é, sem saber quais os pacientes que receberam o placebo ou a droga teste.

Após a randomização os pacientes foram distribuídos em dois grupos:

**Grupo NAC:** pacientes aleatorizados para o grupo NAC receberam 150 mg/kg em 500 ml de solução de NaCl 0,9% duas horas antes da cirurgia (dose de ataque) endovenoso (EV), seguido de 50 mg/kg em 500 ml de solução de NaCl 0,9% por seis horas durante a cirurgia, após a indução anestésica (dose de manutenção) por via EV em bomba de infusão contínua.

**Grupo Controle:** pacientes do grupo controle receberam apenas a infusão de solução de NaCl 0,9% nas mesmas doses e velocidade de infusão do grupo NAC, com características indistinguíveis da solução tratamento, garantindo o caráter “cego” do estudo.

Em todos os outros aspectos os pacientes foram tratados de acordo com as rotinas e critérios da Unidade de Terapia Intensiva Cirúrgica do InCor, sem a interferência dos pesquisadores. No entanto, o tipo de

tratamento e as doses de medicamentos empregadas foram registrados e levados em consideração na análise final dos dados.

### **3.1.1. Critérios de Inclusão**

Para inclusão no estudo os participantes deveriam apresentar os critérios abaixo:

- 1 – Pacientes adultos com idade entre 30 e 80 anos;
- 2 – Com indicação eletiva de revascularização cirúrgica do miocárdio;
- 3 – Com filtração glomerular, avaliada pela fórmula do MDRD<sup>(31)</sup>, < 60 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> e > 15 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> superfície corpórea (estágios 3 e 4 da DRC).

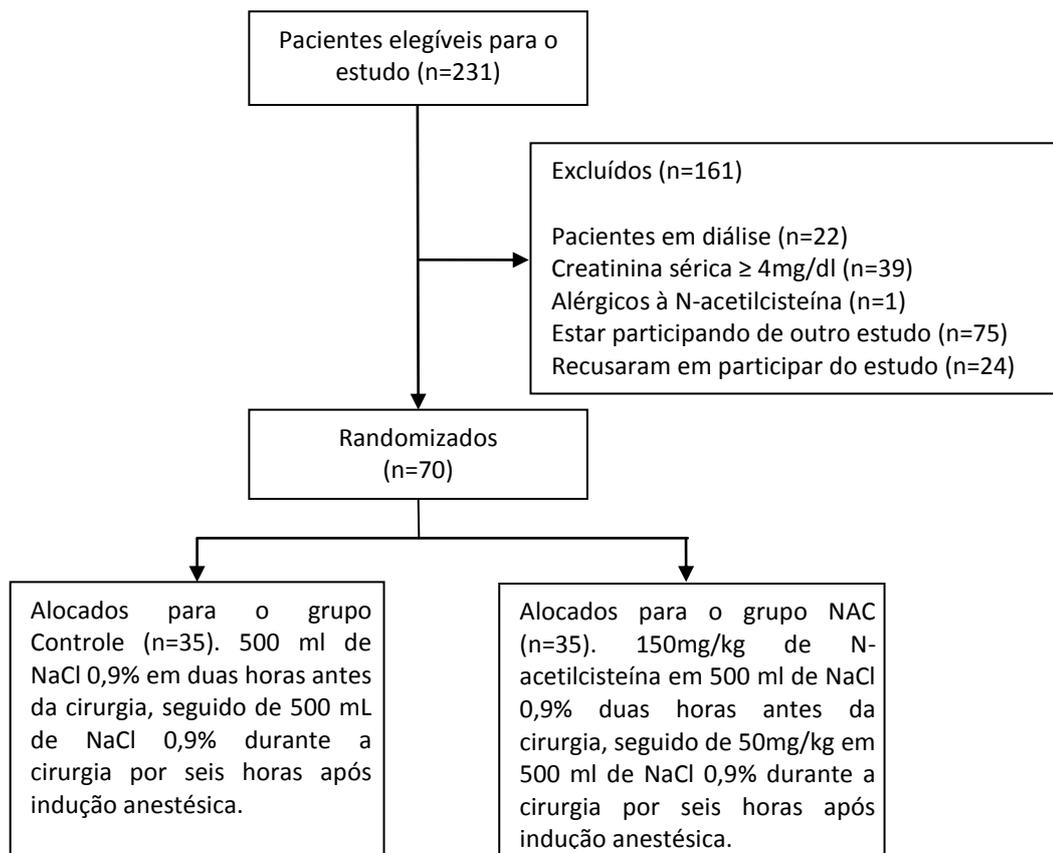
### **3.1.2. Critérios de Exclusão**

- 1 – Pacientes em diálise crônica;
- 2 – Com creatinina sérica superior ou igual a 4 mg/dL;
- 3 – Indivíduos alérgicos ou com intolerância à N-acetilcisteína;
- 4 – Gestantes;
- 5 – Neoplasia atual
- 6 – Estar participando de outro estudo;
- 7 – Recusa em participar do estudo.

### 3.2. Pacientes

Foram avaliados 231 pacientes internados na Unidade de Coronariopatia Crônica do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor-HCFMUSP) no período de 02/01/2009 a 15/11/2012 para inclusão no estudo.

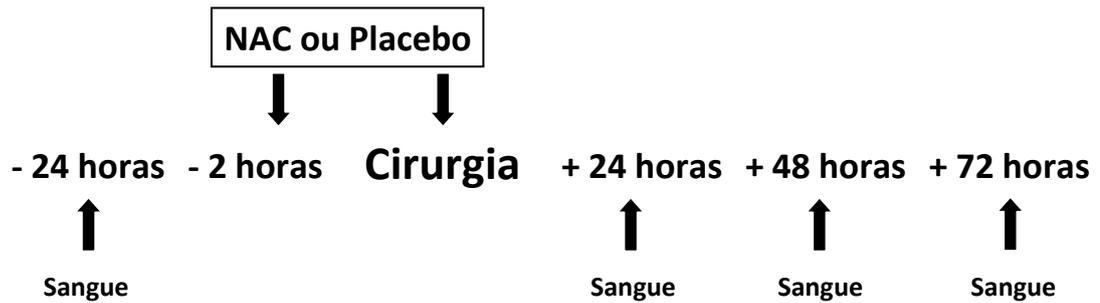
Dos pacientes avaliados, foram incluídos no estudo 70 pacientes de ambos os sexos com indicação eletiva de cirurgia de revascularização do miocárdio com e sem circulação extracorpórea (CEC), que preenchiam todos os critérios de inclusão e não apresentavam nenhum critério de exclusão (Figura 1).



**Figura 1.** Fluxograma de Elegibilidade e Inclusão no Estudo

### 3.3. Sequência de Procedimentos do Estudo

A Figura 2 mostra a sequência de procedimentos realizados neste estudo durante todo o período de avaliação dos pacientes.



**Figura 2.** Sequência de procedimentos durante a avaliação dos pacientes.

### 3.4. Procedimento Cirúrgico

A anestesia foi induzida com 5  $\mu$ /kg de fentanil, 0,05 mg/kg de midazolam, 0,2 -0,3 mg/kg de etomidato e 0,1 mg/kg de pancurônio. A manutenção da anestesia se deu com isoflurano inalatório e fentanil, se necessário.

As cirurgias foram realizadas sempre pelo mesmo cirurgião, sendo que este definia se o procedimento utilizaria ou não circulação extracorpórea (CEC). Na cirurgia realizada com circuito de circulação extracorpórea foi utilizada solução cardioplégica fria; na técnica sem CEC, o estabilizador “Octopus” foi utilizado, sendo discutido com maiores detalhes em outro estudo<sup>(71)</sup>. Foram administrados 500 U/Kg de heparina nos pacientes submetidos à CEC e de 200 a 300 U/Kg de heparina nos pacientes que não foram submetidos à CEC.

Todos os pacientes foram monitorados com cateter venoso central e cateter arterial. Após a entubação orotraqueal, os pacientes foram ventilados com pressão positiva intermitente com volume corrente de 8 ml/kg, pressão positiva expiratória final (PEEP) de 5 a 8 cm de H<sub>2</sub>O e fração inspirada de oxigênio (FiO<sub>2</sub>) de 60% a 100% para manter a saturação arterial de oxigênio superior a 95%. A indicação do uso de fármacos vasoativos se deu de acordo com protocolo específico da instituição. A glicemia capilar, em todos os pacientes, foi mantida abaixo de 160 mg/dL, sendo utilizada insulina endovenosa quando necessário. Metilprednisolona 10 mg/kg e cefuroxima 750 mg foram utilizados no momento da indução anestésica por via endovenosa. Ácido aminocapróico (5g) foi utilizado em todos os pacientes como antifibrinolítico com manutenção de 1g/h até o final da cirurgia. Após a reversão da heparina com protamina, eram coletadas amostras de sangue para dosagem de plaquetas e coagulograma. Na vigência de sangramento significativo relacionado à coagulação ou plaquetopenia, foram administrados plasma fresco, crioprecipitado ou plaquetas de acordo com o protocolo da instituição.

Após o término da cirurgia os pacientes foram transferidos para a Unidade de Terapia Intensiva (UTI) ainda entubados e sob sedação. A extubação se deu na UTI após a recuperação completa da anestesia, estando os pacientes hemodinamicamente estáveis, temperatura corporal adequada e gases arteriais dentro dos limites da normalidade. Os pacientes receberam alta da UTI quando preenchem os critérios específicos estabelecidos por protocolo institucional.

### **3.5. Avaliação Clínica e Laboratorial**

Foi elaborado um instrumento específico para a coleta e organização dos dados utilizados no desenvolvimento do estudo. Também foi criado um banco de dados, especialmente desenvolvido para este projeto, que foi alimentado em tempo real.

Após a aleatorização, além dos dados clínicos e demográficos, foram obtidas informações necessárias para o cálculo de risco cirúrgico pelo EuroSCORE<sup>(72)</sup>.

Nos primeiros 50 casos foram também coletadas amostras de sangue e urina para determinação dos valores pré-operatórios dos marcadores de disfunção renal (NGAL e Cistatina C), de inflamação (Proteína C Reativa - PCR) e de estresse oxidativo (thiobarbituric acid reactive substances – TBARS). Este procedimento foi repetido em 24, 48 e 72 horas após o término da cirurgia.

Após o término da cirurgia, verificamos o número e o tipo de enxertos utilizados, uso e tempo de CEC, drogas vasoativas, balanço hídrico e sanguíneo, diurese, sangramento e necessidade de transfusão de hemoderivados. Durante a permanência na UTI, a cada 24 horas, foram coletadas amostras de sangue para dosagem de uréia, creatinina, creatina quinase MB, creatina fosfoquinase, troponina, eletrólitos, lactato sérico, gasometria arterial e venosa bilirrubinas e proteína C reativa (PCR). Os pacientes foram acompanhados diariamente da admissão até a alta da UTI pelo pesquisador que acompanhou a evolução dos pacientes e os dados laboratoriais.

No momento da admissão do paciente na UTI foi aplicado o escore “*Acute Physiology and Chronic Health disease Classification System II (APACHEII)*”<sup>(73)</sup> para avaliação do risco de óbito e o prognóstico dos pacientes incluídos no estudo.

Sangue foi coletado em frascos específicos para obtenção de plasma e soro. Após a coleta, o sangue foi centrifugado imediatamente a 1000g por 10 minutos e o sobrenadante foi armazenado em freezer a – 80 °C, sendo as dosagens dos marcadores de LRA e de estresse oxidativo, realizadas quando o número total de pacientes foi alcançado.

A técnica utilizada para a dosagem da NGAL e da Cistatina C foi a “enzyme-linked immunosorbed assay” (ELISA). A dosagem da NGAL plasmática foi realizada pela utilização dos kits específicos da Biovendor Human Lipocalin-2/ NGAL ELISA obtidos no Instituto Gênese de Pesquisa, fornecedor dos kits no Brasil. Cada kit possuía 96 poços, as amostras foram diluídas 1:30, conforme solicitação da bula do fabricante e analisadas em duplicata. A sensibilidade do kit é de 0,02 ng/ml.

A dosagem da Cistatina C plasmática foi realizada com a utilização do kit específico da Biovendor Human Cystatin C ELISA. Cada kit possuía 96 poços, as amostras foram diluídas 1:30, conforme solicitação da bula do fabricante e analisadas em duplicata. A sensibilidade do kit é de 0,25 ng/ml.

As concentrações plasmáticas de *TBARS* foram determinadas utilizando-se o método colorimétrico do ácido tiobarbitúrico. Uma amostra de plasma foi diluída em água destilada. Imediatamente, adicionou-se 1 ml de ácido tricloroacético (TCA) 17.5%. Em seguida foi adicionado 1 ml de ácido tiobarbitúrico a 0,6%, pH 2. As amostras foram colocadas em banho de água fervente por 15 minutos e a seguir resfriadas, sendo depois, adicionado a esta mistura 1 ml de TCA a 70% e incubada por 20 minutos. As amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 2000 RPM e a densidade óptica do sobrenadante lida em espectrofotômetro com comprimento de onda de 543 nm contra reagente branco. Os níveis de *TBARS* plasmático foram expressos em nanomoles/ml. A determinação do *TBARS* plasmático foi realizada no Laboratório de Pesquisa Básica em Doença Renal (LIM 12, Disciplina de Nefrologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo). Os outros exames laboratoriais foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas do InCor de acordo com métodos rotineiros.

Após a alta da UTI, os pacientes eram avaliados pelo mesmo pesquisador quanto à evolução clínica diariamente, até a alta hospitalar ou óbito.

### 3.6. Critérios Diagnósticos

#### **LRA:**

Definida pelo critério AKIN. (Quadro 1).

#### **Creatinina sérica:**

Última dosagem de Cr antes da internação hospitalar ou a primeira dosagem de creatinina da internação e a cada 24h até a conclusão do período de observação (72h de pós-operatório), conforme rotina da UTI. Os valores de referência da creatinina padronizados no Instituto do Coração variam entre 0,8 a 1,3 mg/dL. A creatinina foi dosada pelo método colorimétrico (Jaffé).

#### **Taxa de Filtração Glomerular (TFG):**

Calculada de acordo com o método proposto pela “Modification of Diet in Renal Disease (MDRD)”<sup>(31)</sup>, por meio da fórmula:

$TFG: 186 \times (Crp)^{-1,154} \times (idade)^{-0,203} \times (0,742 \text{ se mulher}) \times (1,210 \text{ se negro})$ , onde:

Crp = creatinina plasmática

#### **Hipertensão Arterial:**

Foram considerados hipertensos aqueles indivíduos em uso de medicação anti-hipertensiva ou que apresentassem pressão arterial igual ou maior do que 140/90 mmHg no período pré-operatório.<sup>(74)</sup>

#### **Diabetes Mellitus:**

Diabete foi definida de acordo com os critérios da *American Society of Endocrinology*<sup>(75)</sup>, pelo uso de hipoglicemiantes orais ou de insulina.

**Acidente Vascular Cerebral (AVC) prévio:**

O diagnóstico de AVC prévio (isquêmico ou hemorrágico) foi feito através do relato no prontuário, pela anamnese, exame físico ou dados de exames subsidiários.

**Infarto Agudo do Miocárdio (IAM) prévio:**

Relatado pelo paciente e confirmado pela presença de ondas Q no eletrocardiograma, redução ou perda da perfusão tissular cardíaca pela cintilografia miocárdica e/ou anormalidades na movimentação das paredes do miocárdio pelo ecocardiograma<sup>(76)</sup>.

**Infarto Perioperatório:**

Alterações eletrocardiográficas sugestivas de isquemia miocárdica e elevação de enzimas cardíacas nas primeiras 48h de pós-operatório<sup>(77)</sup>.

**Dislipidemia**

Uso de medicação específica ou níveis séricos de triglicérides maior que 200 mg/dL, e/ou colesterol total maior que 240 mg/dL e/ou LDL colesterol acima de 130 mg/dL<sup>(78)</sup>.

**Doença Vascular Periférica (DVP)**

Definida como história de claudicação intermitente e/ou procedimento vascular invasivo em qualquer momento anterior à cirurgia.

**Morbidade Cardiovascular**

Definida pela ocorrência de infarto perioperatório e/ou acidente vascular encefálico no pós-operatório.

### **3.7. Desfechos**

#### **3.7.1. Primário**

O desfecho primário do estudo foi o desenvolvimento de LRA (estágios 1, 2 ou 3) segundo a classificação AKIN (Quadro 1) até o terceiro dia de pós-operatório (72h).

#### **3.7.2. Secundários**

Os desfechos secundários foram morte por qualquer causa e morbidade cardiovascular durante o período de hospitalização bem como necessidade de diálise nas primeiras 72 horas de pós-operatório. Nos primeiros 50 pacientes avaliamos também a elevação de marcadores de estresse oxidativo (TBARS), filtração glomerular (Cistatina C) dano tissular renal (NGAL) e de inflamação (PCR).

### **3.8. Análise Estatística**

A amostra foi calculada baseando-se em uma análise bi-caudal, com erro alfa de 0,05 e poder de 80% para a incidência de 60% do desfecho primário supondo que o tratamento reduziria a incidência para 25%. De acordo com estes números estimamos que seriam necessários 62 pacientes para atingir o poder amostral. Adicionamos 10% ao tamanho da amostra, considerando a possibilidade de perdas durante o estudo totalizando 70 pacientes.

Os resultados foram expressos em médias  $\pm$  desvio padrão da média, mediana, valores mínimos e máximos e porcentagens. O valor de  $p < 0,05$  foi considerado significativo.

As variáveis contínuas foram comparadas pelo teste t-Student ou de Mann-Whitney e razão de verossimilhança e análise de variância para medidas repetidas. As variáveis categóricas foram comparadas pelo teste do qui-quadrado ou exato de Fisher. Para transformação das variáveis que não apresentavam distribuição normal foi utilizada a transformação logarítmica. A normalidade dos dados foi testada pelo método de Kolmogorov-Smirnov.

A regressão logística foi utilizada para avaliar as associações independentes entre variáveis e desfechos. Os cálculos foram realizados através do programa estatístico SPSS (“Statistical Package for the Social Sciences”), versão 20.0 (Sigma, Chicago, Illinois).

## **4 Resultados**

## **4. Resultados**

### **4.1. Características demográficas e clínicas dos pacientes estudados**

Entre janeiro de 2009 e novembro de 2012 foram selecionados 70 pacientes para o estudo dentre 231 elegíveis. Apesar das altas doses utilizadas, nenhum paciente incluído no estudo apresentou efeito colateral significativo. Concluímos, portanto, pela segurança e boa tolerabilidade do tratamento nesta população.

A análise comparativa entre as características clínicas e demográficas dos indivíduos estudados mostra que os grupos NAC e Controle eram semelhantes, exceto no que se refere ao gênero, uma vez que o sexo masculino predominou no grupo Controle. Ao contrário, a fração de ejeção do VE tendeu a ser maior no grupo NAC (Tabela 1).

Na avaliação pré-operatória, o risco cirúrgico foi semelhante entre os grupos como determinado pelo EuroSCORE. A idade média foi  $64 \pm 9,0$  anos no grupo Controle e  $65 \pm 8,2$  anos no grupo NAC ( $p=0,80$ ), sendo a maioria dos indivíduos do sexo masculino, 86% e 57% nos grupos Controle e NAC ( $p=0,02$ ), respectivamente. O índice de massa corpórea (IMC) foi  $26,9 \pm 4,0$  no grupo Controle e  $27,3 \pm 4,6$  kg/m<sup>2</sup> no grupo NAC ( $p=0,72$ ). Entre as comorbidades, as mais frequentes foram a hipertensão arterial sistêmica (100 vs. 94%  $p=0,42$ ), doença vascular periférica (29% vs. 37%  $p=0,61$ ), dislipidemia (77% vs. 77%  $p=1,00$ ), diabetes (51 vs. 63%  $p=0,47$ ), acidente vascular cerebral prévio (14% vs. 17%  $p=1,000$ ), respectivamente nos grupos Controle e NAC. Em 57% dos Controles e em 66% dos pacientes do grupo NAC ( $P=0,62$ ) pelo menos uma DCV associada (IAM, AVC ou DVP) foi

detectada. A fração de ejeção do VE tendeu a ser maior no grupo NAC, mas sem atingir significância estatística ( $p=0,052$ ). Com relação à medicação utilizada pelos pacientes antes da cirurgia os antiagregantes (89% vs. 97%  $p=0,36$ ), beta-bloqueadores (74% vs. 60%  $p=0,78$ ), inibidores da enzima conversora da angiotensina (60% vs. 60%  $p=1,000$ ) e estatinas (80% vs. 91%  $p=0,31$ ) foram os mais frequentemente utilizados nos grupos Controle e NAC, respectivamente.

**Tabela 1** - Risco Pré-Operatório, Características Demográficas e Ecocardiográficas e Medicação Basal - HCFMUSP - 2009 a 2012

Variável	Controle (n=35)	NAC (n=35)	p
<b>Características Clínicas</b>			
EuroSCORE (mediana)	6	5	0,31
Idade (anos)	64 ± 9,0	65 ± 8,2	0,80
Sexo Masculino	30 (86%)	20 (57%)	0,02
Raça Branca	28 (80%)	29 (83%)	1,00
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	26,9 ± 4,0	27,3 ± 4,6	0,72
HAS	35 (100%)	33 (94%)	0,42
DVP	10 (29%)	13 (37%)	0,61
DLP	27 (77%)	27 (77%)	1,00
AVC prévio	5 (14%)	6 (17%)	1,00
IAM prévio	11 (31%)	13 (37%)	0,80
DCV associada	20 (57%)	23 (66%)	0,62
DM	18 (51%)	22 (63%)	0,47
Tabagismo	15 (43%)	13 (37%)	0,81
Fração de Ejeção do VE	50,5 ± 14,0	56,8 ± 11,9	0,052
<b>Medicação</b>			
Diuretico	17 (49%)	15 (43%)	0,81
BRA	11 (31%)	11 (31%)	1,00
IECA	21 (60%)	21 (60%)	1,00
Antiagregante	31 (89%)	34 (97%)	0,36
Anticoagulante	7 (20%)	12 (34%)	0,26
Vasodilatador	16 (46%)	14 (40%)	0,81
β-bloqueador	26 (74%)	28 (80%)	0,57
Bloq. do Cálcio	12 (34%)	11 (31%)	0,80
Digital	5 (14%)	1 (3%)	0,20
Estatina	28 (80%)	32 (91%)	0,31
Fibrato	3 (9%)	4 (11%)	1,00
Insulina	9 (26%)	12 (34%)	0,60
Hipoglicemiante	9 (26%)	4 (11%)	0,22

EuroSCORE: European System for Cardiac Operative; HAS: hipertensão arterial sistêmica; DM: diabetes mellitus; DVP: doença vascular periférica; DLP: dislipidemia; IAM: infarto agudo do miocárdio; DCV: doença cardiovascular; BRA: bloqueador do receptor da angiotensina; IECA: inibidor da enzima conversora da angiotensina.

Em relação aos dados laboratoriais pré-operatórios (Tabela 2), observou-se que os valores de creatinina no grupo Controle era  $1,7 \pm 0,6$  e  $1,5 \pm 0,5$  mg/dL no grupo NAC (0,25) e a taxa de filtração glomerular era  $44,7 \pm 12,0$  no grupo Controle e  $45,9 \pm 9,2$  ml/min no grupo NAC ( $p=0,65$ ). Os níveis de uréia, colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, triglicérides e glicemia também não diferiram entre os grupos.

**Tabela 2 - Características Laboratoriais Basais - HCFMUSP - 2009 a 2012**

Variável	Controle (n=35)	NAC (n=35)	p
<b>Dados Laboratoriais</b>			
<b>Creatinina (mg/dl)</b>	<b><math>1,7 \pm 0,6</math></b>	<b><math>1,5 \pm 0,5</math></b>	<b>0,09</b>
<b>TFG (ml/min/m<sup>2</sup>)</b>	<b><math>44,7 \pm 12,0</math></b>	<b><math>45,9 \pm 9,2</math></b>	<b>0,64</b>
<b>Uréia (mg/dl)</b>	<b><math>70,2 \pm 33,8</math></b>	<b><math>60,5 \pm 0,9</math></b>	<b>0,15</b>
<b>Colesterol total (mg/dl)</b>	<b><math>169 \pm 37</math></b>	<b><math>188 \pm 57</math></b>	<b>0,13</b>
<b>Colesterol LDL (mg/dl)</b>	<b><math>101 \pm 38</math></b>	<b><math>118 \pm 43</math></b>	<b>0,11</b>
<b>Colesterol HDL (mg/dl)</b>	<b><math>38 \pm 10</math></b>	<b><math>39 \pm 10</math></b>	<b>0,51</b>
<b>Triglicérides (mg/dl)</b>	<b><math>154 \pm 64</math></b>	<b><math>181 \pm 125</math></b>	<b>0,57</b>
<b>Glicemia (mg/dl)</b>	<b><math>163 \pm 94</math></b>	<b><math>138 \pm 66</math></b>	<b>0,273</b>

TFG: taxa de filtração glomerular.

Considerando as características intra-operatórias, não houve diferença entre os grupos quanto à utilização da circulação extracorpórea (CEC), tempo de CEC e de pinçamento aórtico, número de enxertos utilizados, uso de drogas vasoativas, balanço hídrico, débito urinário, balanço sanguíneo, sangramento e necessidade de transfusão de qualquer tipo de hemoderivado. Mais de 2/3 dos pacientes receberam 3 ou mais enxertos. O APACHE II, avaliado imediatamente após a conclusão da cirurgia, também foi semelhante entre os grupos (Tabela 3).

**Tabela 3** - Características intra-operatórias - HCFMUSP - 2009 a 2012

Variável	Controle (n=35)	NAC (n=35)	p
CEC	24 (69%)	22 (63%)	0,62
Tempo de CEC (min)	96,2 ± 28,7	88,1 ± 24,9	0,32
Pinçamento Aórtico	12 (34%)	10 (29%)	0,80
Número de Enxertos			0,496
< 3 enxertos	13 (37%)	6 (17%)	0,11
≥ 3 enxertos	22 (63%)	29 (83%)	
Drogas Vasoativas	34 (97%)	35 (100%)	1,000
Balanço Hídrico (ml, mediana)	2862 (0 – 5670)	2700 (-500 – 4150)	0,09
Balanço Sanguíneo (ml, mediana)	-250 (-750 – 700)	-250 (-1000 – 550)	1,00
Diurese (ml, mediana)	1200	1300	0,56
Sangramento	5 (14%)	7 (20%)	0,75
Transfusão de Hemoderivados	14 (40%)	12 (34%)	0,80
APACHE II (mediana)	25	26	0,62

CEC: circulação extracorpórea; APACHE: Acute Physiologic and Chronic Health Evaluation.

## 4.2. Desfechos

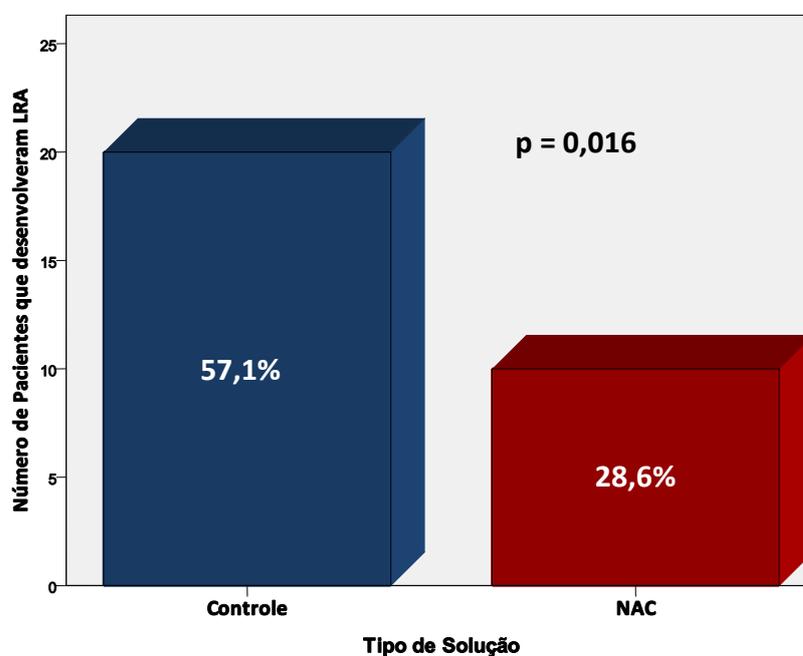
### 4.2.1. Desfecho Primário

Durante os três primeiros dias de pós-operatório 30 pacientes (43%) desenvolveram LRA (AKIN estágios 1, 2 ou 3). Houve diferença significativa entre os grupos quanto ao desfecho primário que ocorreu em 20 pacientes (57,1%) do grupo Controle e em 10 pacientes (28,6%) do grupo NAC ( $p=0,016$ ), configurando uma redução na incidência da ordem de 50,8% (Tabela 4; Figura 3). Quando consideramos a incidência da LRA nos três estágios separadamente observamos que dos 30 pacientes com LRA, 25

foram classificados como estágio 1, 4 como estágio 2 e apenas 1 como estágio 3. Estes resultados refletem a pouca gravidade da LRA associada com o procedimento cirúrgico na totalidade da nossa amostra.

**Tabela 4** - Incidência do Desfecho Primário - HCFMUSP - 2009 a 2012

Variável	Controle (n= 35)	NAC (n= 35)	p (valor)
LRA	20 (57,1%)	10 (28,6%)	0,016



**Figura 3.** Incidência do desfecho primário – lesão renal aguda definida pelo critério AKIN (estágios 1, 2 ou 3) nos grupos Controle e NAC

A Tabela 5 apresenta a associação de sete variáveis e a incidência da LRA. Além do não uso da NAC, duas variáveis foram incluídas no modelo porque apresentaram distribuição diferentes nos grupos Controle e NAC (gênero e fração de ejeção do VE). Idade, diabetes, doença cardiovascular de qualquer natureza e CEC fizeram parte da análise devido

ao potencial de influenciar desfechos, como demonstrado em outros estudos. Observamos que apenas o não uso da NAC (RR= 5,88, p= 0,015) e a cirurgia com CEC (RR= 6,39, p= 0,012) influenciaram a incidência da LRA nas primeiras 72 horas de pós-operatório. Enquanto NAC reduziu a ocorrência da LRA, a cirurgia com CEC favoreceu a instalação de disfunção renal. Estas influências foram exercidas independentemente.

**Tabela 5** - Preditores de Lesão Renal Aguda - HCFMUSP - 2009 a 2012

Variável	RR	IC %	p (valor)
NÃO uso da NAC	5,88	-2,86 — -0,28	0,015
Idade (anos)	1,59	-0,02 — 0,11	0,21
Sexo masculino	0,68	-1,65 — 1,06	0,68
Diabetes	2,38	-2,14 — 0,24	0,12
Doença cardiovascular*	0,31	-1,55 — 0,84	0,57
Fração de ejeção VE < 50%	1,39	-0,49 — 2,10	0,24
Circulação extracorpórea	6,39	-2,98 — -0,34	0,012

\*: infarto do miocárdio, acidente vascular encefálico, doença vascular periférica.

A Tabela 6 mostra a interação entre o uso da N-acetilcisteína e da circulação extracorpórea na incidência da LRA.

**Tabela 6-** Interação entre os efeitos da N-acetilcisteína (NAC) e da circulação extracorpórea (CEC) na incidência de LRA - HCFMUSP - 2009 a 2012

Grupo	LRA SIM	LRA NÃO	Total	RR	p (valor)
NAC sim CEC não	1 (8%)	12 (92 %)	13	1,0	
NAC sim CEC sim	9 (41%)	13 (59%)	22	8,3	0,06
NAC não CEC não	5 (45%)	6 (55%)	11	10,0	0,06
NAC não CEC sim	15 (63%)	9 (37%)	24	20,0	0,008

Observamos que pacientes tratados com NAC e que não foram submetidos à CEC tiveram a menor incidência de LRA (8%), enquanto aqueles que não receberam NAC e que foram tratados com CEC apresentaram a mais alta incidência de disfunção renal (63%). Estes últimos tiveram uma chance 20 vezes maior de desenvolver LRA em comparação com o grupo de menor risco. Os outros dois grupos ocuparam posição intermediária entre os extremos. Vale salientar que nos pacientes operados com CEC o uso da NAC resultou na queda da incidência de LRA em 20 pontos percentuais, de 63% para 43%, que equivale a uma diminuição da chance de evento de 20,0 para 8,3 (Tabela 6).

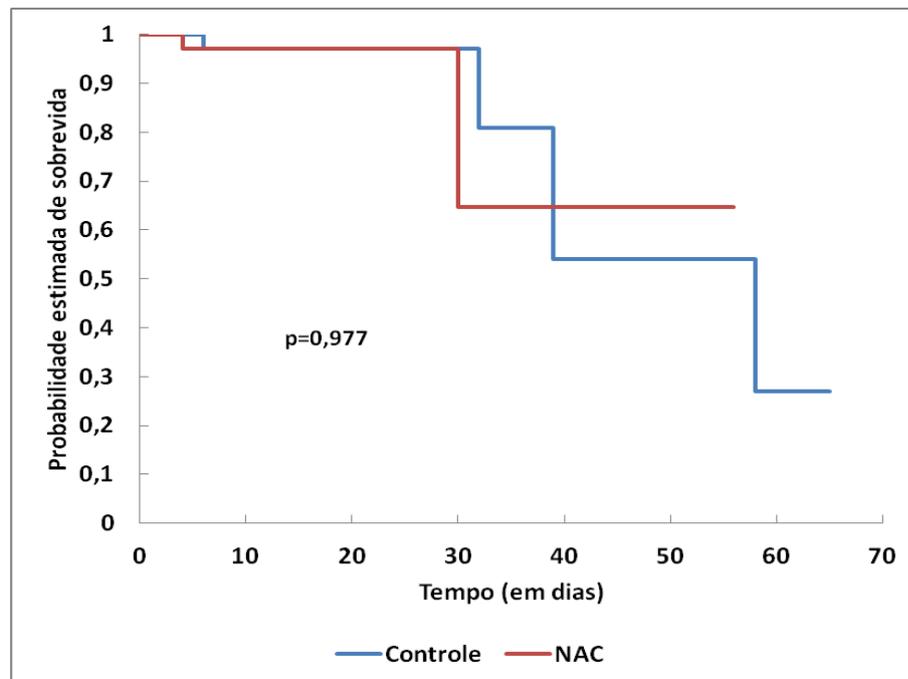
#### **4.2.2. Desfechos Secundários**

##### **Morte por qualquer causa durante a hospitalização**

Durante o período de hospitalização ocorreram 6 mortes (8,6%), sendo 4 no grupo Controle (11,4%) e duas no grupo NAC (5,7%). As curvas de sobrevida (Figura 4) ao longo da internação hospitalar não mostraram diferenças entre os grupos ( $p= 0,977$ ). Apenas uma das seis mortes ocorreram durante as primeiras 72 horas de pós-operatório. Este óbito foi observado em um paciente do grupo NAC e foi devido a IAM. Todas as outras mortes tiveram lugar depois de transcorridas 72 horas da cirurgia. Uma foi devida a IAM, no quinto dia de pós-operatório, e as outras causadas por infecção (Tabela 7). Quatro das seis mortes ocorreram em pacientes que desenvolveram LRA.

**Tabela 7** - Incidência e causa de morte, nos dois grupos, de acordo com o tempo (dias) de pós-operatório - HCFMUSP - 2009 a 2012

Grupo	Paciente	Causa da morte	Dia de pós-operatório
Controle	2	Infecção	52
Controle	9	Infecção	37
NAC	12	IAM	2
Controle	14	Infecção	30
NAC	43	Infecção	29
Controle	59	IAM	5



**Figura 4.** Estimativas por Kaplan-Meier da sobrevida durante a hospitalização, segundo os grupos de tratamento

### Morbidade cardiovascular durante a hospitalização

Onze pacientes (15,7%) apresentaram eventos cardiovasculares significativos depois da cirurgia (Tabela 8) 7 no grupo Controle (64%) e 4 no grupo NAC (36%). Esta diferença não foi significativa ( $p=0,67$ ). Dois dos eventos cardiovasculares resultaram em morte, ambos causados por IAM (casos 12 e 59).

**Tabela 8** - Incidência e causa de eventos cardiovasculares, nos dois grupos, de acordo com o tempo (dias) de pós-operatório - HCFMUSP - 2009 a 2012

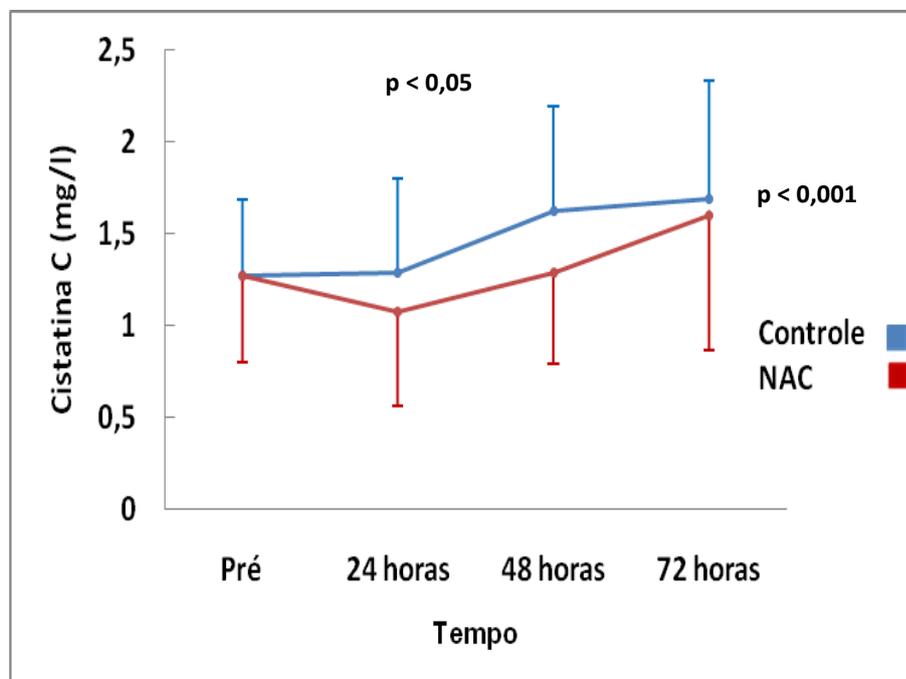
Grupo	Paciente	Tipo de evento	Dia de pós-operatório
NAC	12	IAM	1
NAC	16	IAM	2
Controle	19	IAM	2
Controle	22	IAM	1
Controle	38	IAM	2
Controle	48	IAM/AVC	1/3
NAC	49	AVC	8
Controle	53	IAM	2
Controle	56	IAM	1
Controle	59	IAM	1
NAC	65	IAM	1

Durante o seguimento nenhum paciente necessitou de diálise ou de reoperação. O tempo de permanência na UTI (mediana, dias) (Controle= 4,0; NAC= 4,0;  $p= 0,19$ ) e tempo total de internação hospitalar (mediana, dias) (Controle= 13,0; NAC= 11,0;  $p= 0,37$ ), foram semelhantes entre os grupos.

#### 4.2.2.1. Comportamento da Cistatina C, Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin (NGAL), Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) e Proteína C Reativa (PCR).

Nos primeiros 50 pacientes avaliamos a relação entre marcadores de filtração glomerular, lesão tubular renal, geração de EROS e de inflamação com a finalidade de validar os resultados da classificação AKIN e oferecer uma explicação plausível para o efeito renoprotetor da NAC.

Os níveis de Cistatina C se elevaram durante o período de observação nos dois grupos ( $p < 0,001$ ) sendo significativamente mais elevada no grupo Controle no segundo dia de observação. ( $p < 0,05$ ), Figura 5.



**Figura 5.** Evolução da Cistatina C ao longo do tempo nos grupos Controle e NAC

Quando comparamos a Cistatina C em pacientes com e sem LRA, vemos que este marcador foi mais elevado no grupo Controle a partir do primeiro dia de pós-operatório (Tabela 9).

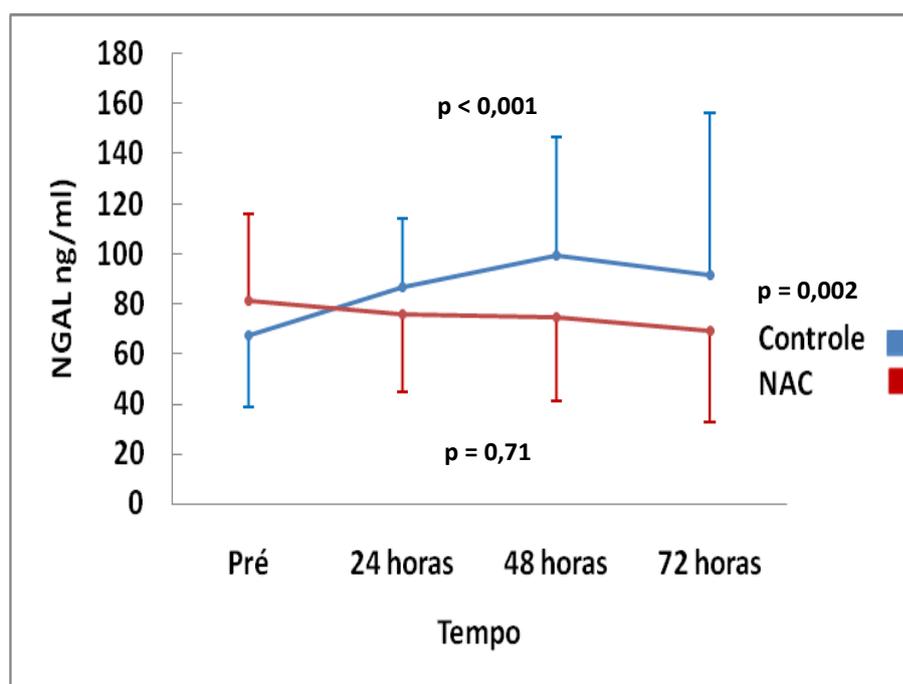
**Tabela 9** - Comparação dos valores de Cistatina C entre os pacientes que desenvolveram e os que não desenvolveram LRA - HCFMUSP - 2009 a 2012

Variável	LRA		p (valor)
	Não (n=29)	Sim (n=21)	
Cistatina C Pré	1,28 ± 0,5	1,26 ± 0,4	0,926
Cistatina C 24h	1,1 ± 0,5	1,4 ± 0,5	0,032
Cistatina C 48h	1,3 ± 0,5	1,7 ± 0,5	0,040
Cistatina C 72h	1,5 ± 0,6	1,9 ± 0,8	0,041

Análise estatística realizada após transformação logarítmica dos dados.

Em relação ao NGAL, houve aumento do nível sérico a partir das primeiras 24h até 72h em comparação ao valor basal, no grupo Controle ( $p < 0,001$ ). No grupo NAC, não observamos alterações dos valores do NGAL ao longo do tempo ( $p = 0,17$ ). A diferença do comportamento dos dois grupos no período de observação foi significativa ( $p = 0,002$ ). Na comparação entre os grupos, as médias de NGAL nos tempos 48h e 72h foram significativamente mais elevadas no grupo Controle (Figura 6).

Na comparação entre os pacientes com e sem LRA observamos que o NGAL foi mais elevado nos indivíduos que desenvolveram LRA desde o segundo dia de pós-operatório (Tabela 10).



**Figura 6.** Evolução do NGAL (ng/mL) ao longo do tempo nos grupos Controle e NAC. Análise estatística realizada após transformação logarítmica dos dados

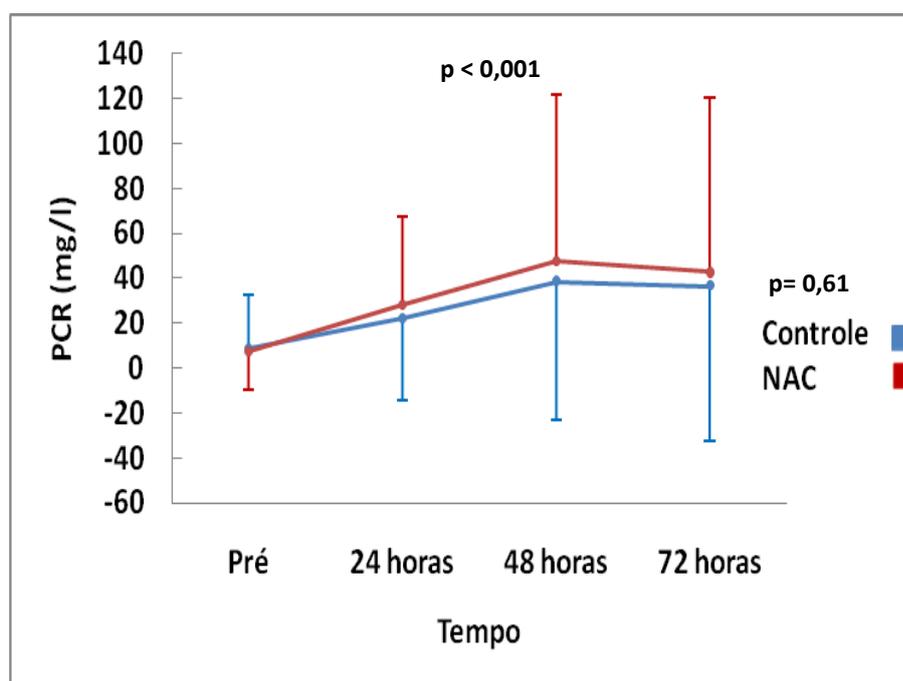
**Tabela 10** - Comparação dos valores do NGAL entre os pacientes que desenvolveram e os que não desenvolveram LRA - HCFMUSP - 2009 a 2012

Variável	LRA		p (valor)
	Não (n=29)	Sim (n=21)	
NGAL Pré	76,7 ± 35,6	70,2 ± 27,4	0,483
NGAL 24h	72,6 ± 26,3	93,5 ± 29,9	0,011
NGAL 48h	69,5 ± 24,4	112,1 ± 50,8	0,000
NGAL 72h	67,7 ± 32,4	98,8 ± 39,7	0,040

Análise estatística realizada após transformação logarítmica dos dados.

Concluimos que o uso da NAC atenuou as alterações renais associadas à agressão cirúrgica tanto pelo critério da AKIN como pelos outros marcadores de lesão renal, Cistatina C e NGAL.

A PCR se elevou de forma semelhante nos dois grupos ao longo das 72 horas de observação ( $p < 0,001$ ) e não houve diferença no comportamento das curvas ao longo do tempo ( $=0,61$ ). Não houve diferença significativa entre os grupos em nenhum dos quatro períodos de observação (Figura 7, Tabela 11).



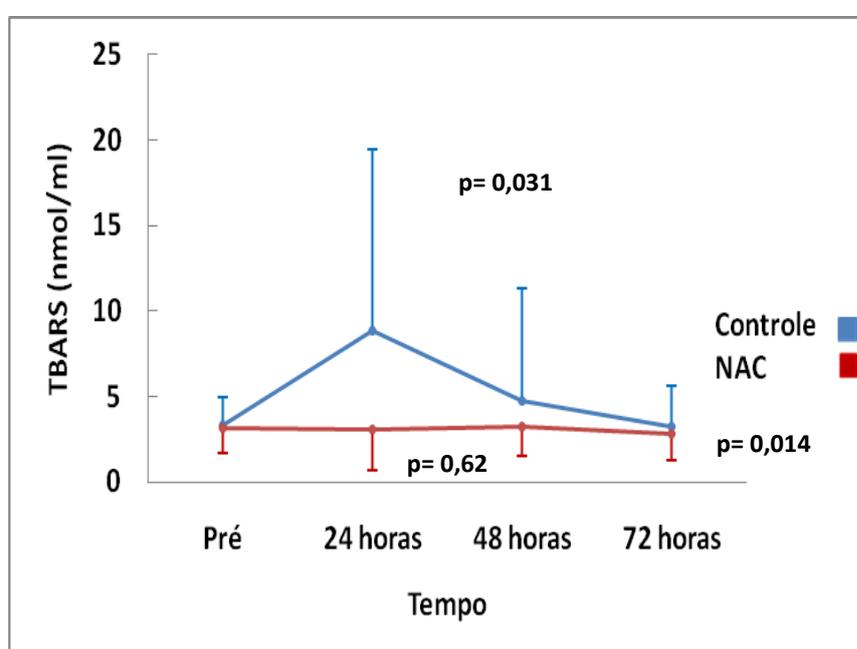
**Figura 7.** Evolução da PCR ao longo do tempo nos grupos Controle e NAC. Análise estatística realizada após transformação logarítmica dos dados

**Tabela 11-** Comparação dos valores da PCR ao longo do tempo nos grupos Controle e NAC (mediana) - HCFMUSP - 2009 a 2012

Tempo	Controle	NAC	P (valor)
Pre	8,56	7,52	ns
24 horas	21,96	28,39	ns
48 horas	38,54	47,85	ns
72 horas	36,83	42,89	ns

Análise estatística realizada após transformação logarítmica dos dados.

A evolução dos níveis séricos do TBARS é mostrada na Figura 8 e Tabela 12 e diferiu significativamente entre os grupos ( $p= 0,014$ ). No grupo Controle o TBARS se elevou ao longo do tempo ( $p=0,031$ ), fato que não ocorreu no grupo NAC ( $p= 0,62$ ). Na comparação entre cada período nos dois grupos os níveis do TBARS no tempo 24 horas foram maiores no grupo Controle ( $p= 0,02$ ).



**Figura 8.** Evolução do TBARS ao longo do tempo de estudo nos grupos Controle e NAC. Análise estatística realizada após transformação logarítmica dos dados.

**Tabela 12-** Comparação dos valores do TBARS ao longo do tempo nos grupos Controle e NAC (mediana) - HCFMUSP - 2009 a 2012

Tempo	Controle	NAC	p (valor)
Pre	3,30	3,16	ns
24 horas	8,81	3,03	0,02
48 horas	4,69	3,21	ns
72 horas	3,21	2,81	ns

Análise estatística realizada após transformação logarítmica dos dados.

Os resultados indicam que o tratamento com NAC bloqueia a elevação do TBARS ao longo das 72 h de observação e que este efeito é mais evidente nas primeiras 24 horas.

No conjunto, os dados relativos à NGAL, PCR e TBARS indicam que o tratamento pela NAC altera marcadores de variáveis que possivelmente participam na etiopatogenia da LRA (filtração glomerular, lesão tubular e aumento do estresse oxidativo) sem, contudo, interferir na resposta inflamatória inespecífica que se segue a o trauma cirúrgico.

## **5 Discussão**

## 5. Discussão

Neste estudo prospectivo, aleatorizado e duplo cego demonstramos que a N-acetilcisteína, administrada em altas doses por via endovenosa, reduz a incidência da LRA em pacientes com doença renal crônica, submetidos à cirurgia eletiva de revascularização miocárdica. Isto ocorreu apesar dos nossos pacientes, além de DRC estágios 3 ou 4, apresentar alta prevalência de diabetes, idade avançada e doença cardiovascular e de terem sido operados, na sua maioria, com CEC, fatores que aumentam consideravelmente a probabilidade da LRA no pós-operatório<sup>(4-6)</sup>. De acordo com o melhor do nosso conhecimento, este é o primeiro trabalho na área de cirurgia cardíaca onde a LRA foi definida pelo critério AKIN. É também um dos poucos trabalhos da literatura que utilizaram doses de NAC consideradas máximas para uso humano e que se mostraram capazes de reduzir a geração de EROs durante cirurgia cardíaca<sup>(40)</sup>.

Também demonstramos que o não uso da NAC foi associado de forma independente de outros fatores de confusão com uma maior probabilidade de LRA, com uma razão de risco de 5,88. O não uso da NAC e a utilização da CEC (razão de risco= 6,39) durante a cirurgia foram os únicos preditores independentes da LRA. É interessante notar que nos pacientes que usaram CEC, a NAC reduziu significativamente a incidência da LRA. Os dados indicam que o não uso da NAC e a CEC conspiram para aumentar substancialmente o risco da LRA e que o tratamento com a NAC atenua os efeitos negativos da CEC na função renal.

A base teórica para o uso da NAC na prevenção da LRA esta relacionada com as suas propriedades antioxidante, antiinflamatória e vasodilatadora <sup>(79, 80)</sup>. No entanto, existem controvérsias quanto ao efeito renoprotetor da NAC, tanto em modelos experimentais como na clínica. Enquanto que em animais de experimentação os resultados são em geral animadores<sup>(81, 82)</sup>, o mesmo não pode ser dito quando se trata de trabalhos clínicos. Em ensaios clínicos, a NAC tem sido utilizada em situações onde existe uma alta incidência da LRA, incluindo cirurgia cardíaca. Nesta última, os resultados têm sido na sua maioria, negativos, em contraste com o observado na presente investigação.

Com a finalidade de tornar esta Discussão mais informativa, confrontamos os nossos dados com os descritos em 5 meta-análises publicadas entre 2008 e 2011 <sup>(70, 83-86)</sup>, que incluíram trabalhos com uso de NAC por via endovenosa, em pacientes submetidos à cirurgia cardiovascular. Complementamos a pesquisa bibliográfica pela busca ativa no MedLine de artigos, com as mesmas características, publicados nos últimos 10 anos. Esta abordagem permitiu construir um panorama abrangente do conhecimento atual do efeito da NAC na taxa de eventos pós-cirurgia cardiovascular, tornando a Discussão mais objetiva e dinâmica e situando os nossos resultados no contexto da literatura (Tabela 13).

**Tabela 13** - N-acetilcisteína e função renal pós-cirurgia cardiovascular: estudos prospectivos, aleatorizados e cegos - HCFMUSP - 2009 a 2012

Autor	n	Crítérios de Inclusão	Dose da NAC	Desfecho Primário	Diálise no Pós-operatório (n)	Efeito Primário
Burns <sup>(11)</sup> et al. <i>JAMA</i> 2005	295	RM, DM, DRC, > 69 anos, ICC	600 mg IV 4X	Aumento 25% na Cr até 5 <sup>o</sup> PO	4	Nenhum
Fischer <sup>(12)</sup> et al <i>Curr Med Res Opin</i> 2005	40	RM, Função renal normal CEC	100 mg/Kg (ataque) 20 mg/Kg/h (manutenção)	Aumento significativa da CR 1 <sup>o</sup> PO	zero	Melhora da função renal
Ristikankare <sup>(87)</sup> et al <i>Br J Anesth</i> 2006	80	RM, DRC CEC	150 mg/Kg (ataque) 20 mg/Kg (manutenção)	Cr, NGAL Cystatin C	1	Nenhum
Hynninen <sup>(13)</sup> et al <i>Anesth Analg</i> 2006	70	AN de aorta abdominal, Função renal normal	150 mg/Kg (ataque) 150 mg/Kg/24h (manutenção)	Cr, NGAL, Cystatin C	Zero	Nenhum
Macedo E <sup>(88)</sup> et al <i>Nephro Dial Transplant</i> 2006	42	AN de aorta função renal estável	1200 mg VO 2x dia pré-op, 600 mg IV 2X dia por 48 h	Cr $\geq$ 25% até 3 <sup>o</sup> PO	1	Nenhum
Sisillo <sup>(69)</sup> et al <i>Crit Care Med</i> 2008	254	DRC	1200 mg IV (ataque) 1200 mg IV 8/8h por 24 h	Cr > 25%	16	Efeito não significativo (p= 0,06)
EI-Hamamsy <sup>(89)</sup> et al <i>J Thorac Cardiovasc Surg</i> 2007	100	Consecutivos	600 mg VO 2x dia 24 h antes da operação; 150 mg/Kg IV (ataque); 12,5 mg/kg/h por 24 h	Aumento absoluto da Cr	Não descrita	Nenhum
Haase <sup>(68)</sup> et al <i>Crit Care Med</i> 2007	60	Alto risco de LRA CEC	300 mg/Kg por 24 h	Aumento absoluto Cr até 5 <sup>o</sup> PO	2	Nenhum
Wijeyesundera <sup>(90)</sup> et al <i>Can J Anesth</i> 2007	177	DRC	100 mg/kg bolus (ataque); 20 mg/kg/h por 4 h (manutenção)	Alteração % TFG 72 h pós-operatório	4	Nenhum efeito sobre a função renal. Redução da mortalidade 0,007
Santos 2013	70	DRC	150 mg/kg 2h (ataque) 50 mg/kg por 6 h (manutenção)	AKIN 1, 2 ou 3	Zero	Redução da incidência da LRA (p= 0,016)

RM: revascularização miocárdica cirúrgica; DM: diabetes melito; DRC: doença renal crônica; AN: aneurisma; Cr: creatinina; CEC: circulação extracorpórea; NAG: N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase; TFG: taxa de filtração glomerular; LRA: lesão renal aguda.

Dos nove trabalhos da literatura rastreados entre 2008 a 2011, em apenas um foi possível demonstrar efeito renoprotetor da NAC <sup>(12)</sup>. Neste trabalho os autores administraram NAC em doses próximas as do nosso e demonstraram que o tratamento se associou com melhor função renal no pós-operatório de pacientes operados com CEC.

Dentre as oito investigações com resultados negativos, em três <sup>(11, 69, 88)</sup> as doses de NAC empregadas foram muito inferiores as utilizadas nos outros trabalhos, inclusive no nosso. Esquemas com doses reduzidas da NAC semelhantes foram empregados com sucesso na prevenção de insuficiência renal induzida por meio de contraste <sup>(60)</sup>, mas podem ser insuficientes diante de graus mais acentuados de geração de EROs, como ocorre na cirurgia cardíaca, especialmente quando se utiliza a CEC. Portanto, estes resultados negativos podem ser em parte atribuídos ao uso de doses insuficientes da NAC. Mesmo assim, um dos autores <sup>(69)</sup> observou uma diferença na elevação da creatinina favorecendo o grupo NAC muito próxima da significância ( $p=0,06$ ). Restam cinco trabalhos, realizados com doses elevadas de NAC, administradas por via endovenosa, com resultados negativos. Esta discrepância com os achados desta Tese merece uma avaliação mais extensa.

Dos cinco trabalhos com resultados negativos realizados obedecendo a um protocolo bastante parecido com o nosso, em dois o parâmetro utilizado para definir a LRA foi a concentração da creatinina sérica <sup>(68, 89)</sup> e, no outro, a taxa da filtração glomerular calculada pela equação de Cockcroft-Gault <sup>(90)</sup> que depende também dos níveis da creatinina e não leva em conta o débito

urinário, como ocorre com o critério AKIN. Está bem estabelecido que a creatinina, usada isoladamente, tem relativamente pouca sensibilidade para detectar precocemente redução aguda da função renal<sup>(91)</sup>. O critério utilizado no presente trabalho para definir a LRA, proposto pela AKIN, é mais sensível que a creatinina usada isoladamente por levar em consideração, além do aumento da creatinina, a redução da diurese. Portanto, é concebível que os resultados negativos descritos por estes três autores possam ser explicados pela baixa sensibilidade do método usado para definir a LRA. Esta crítica também se estende aos três outros estudos, referidos acima <sup>(11, 69, 88)</sup>, que empregaram doses menores de NAC e definiram a LRA pelo aumento da creatinina.

Nos dois trabalhos restantes<sup>(13, 87)</sup> os autores, além da creatinina, recorreram ao aumento da NAG (N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase) urinária e da Cistatina C no soro como critérios para definir a LRA. Em ambos, os níveis de NAG e de Cistatina C, juntamente com os da creatinina, não foram afetados pelo tratamento pela N-acetilcisteína. A NAG se elevou ligeiramente no pós-operatório, mas com intensidade comparável nos grupos Controle e NAC. A NAG, no entanto, é um marcador pouco específico de lesão renal significativa uma vez que sua excreção urinária aumenta em condições de estresse como o trauma cirúrgico, mesmo não havendo alterações que possam levar à disfunção renal aguda<sup>(92)</sup>. Por outro lado, a Cistatina C é considerada como um marcador fidedigno de redução da filtração glomerular e é em geral tida como mais sensível que a creatinina como indicador de disfunção renal aguda<sup>(91)</sup>.

Nos 50 primeiros pacientes deste estudo realizamos uma avaliação da filtração glomerular pela Cistatina C e de lesão tubular pelo NGAL. O objetivo foi validar o critério AKIN recorrendo a métodos independentes de diagnosticar a LRA. Ao contrário dos dois estudos referidos acima, tanto a Cistatina C como o marcador de lesão tubular (NGAL) foram significativamente mais elevados nos pacientes do grupo Controle, corroborando os resultados obtidos quando a LRA foi definida pelo critério AKIN.

Não encontramos nenhuma explicação imediata para disparidade entre os nossos resultados e os dos dois autores mencionados acima. Como já salientamos, a NAG parece ser menos sensível que o NGAL como marcador da LRA, mas não existem trabalhos comparando diretamente os dois marcadores. Outra possibilidade é que, ao contrário da nossa pesquisa, Hynninen<sup>(13)</sup> excluiu pacientes com doença renal pré-existent e, desta forma, os seus dados não permitem avaliar a possibilidade da NAC ser eficaz neste grupo de pacientes. Esta interpretação está de acordo com os resultados da investigação de Fischer que observou efeito renoprotetor da NAC em pacientes com doença renal crônica mas não explica os achados de Ristikankare<sup>(87)</sup> que incluiu pacientes com DRC e não obteve resultados significantes com a NAC.

Resta considerar o fato da disfunção renal aguda grave ter sido um evento raro na totalidade dos dez estudos discutidos aqui, incluindo esta Tese. No nosso trabalho, observamos um caso de insuficiência renal grave (AKIN estágio 3) dentre os 30 pacientes com LRA. De fato, se considerarmos a necessidade de diálise como evidência de gravidade da

LRA, vemos que apenas 28/1086 pacientes (2,6%) dos 9 estudos foram submetidos a esta modalidade de tratamento. Isto significa que os trabalhos até agora realizados, embora tenham incluído pacientes de risco, não permitem concluir que a NAC é eficaz em pacientes que de fato desenvolvem LRA grave no pós-operatório. Apenas indicam que nesta população com LRA de menor gravidade são necessários métodos mais sensíveis (como o critério AKIN) para demonstrar o efeito renoprotetor da NAC. Trabalhos com pacientes ainda mais graves são necessários para determinar se a NAC reduz a incidência de LRA em pacientes que de fato desenvolveram disfunção renal grave.

No que diz respeito aos desfechos secundários, não observamos diferença entre os grupos. Vale salientar que o número total das complicações graves foi pequeno, dificultando qualquer comparação estatística entre os grupos. Outros autores citados na Tabela 13 em geral também não observaram impacto do tratamento pela NAC nos desfechos secundários. Apenas em um trabalho<sup>(90)</sup> ocorreu redução da incidência de morte por qualquer causa ( $p=0,007$ ). Em outro estudo Sisillo<sup>(69)</sup> observou redução na necessidade de ventilação mecânica prolongada e no tempo de permanência em UTI.

O tratamento pela NAC não influenciou os níveis da proteína C reativa, utilizada como índice de inflamação. A PCR se elevou nos dois grupos de forma semelhante. Estes resultados sugerem que a NAC não interfere apreciavelmente com a resposta inflamatória inespecífica que acompanha o ato cirúrgico e indicam que a resposta inflamatória sistêmica

provavelmente não desempenha um papel importante na gênese da LRA associada à cirurgia cardíaca. Outros autores<sup>(89)</sup> que estudaram a relação entre os níveis de citocinas inflamatórias e a ocorrência de disfunção renal pós-operatória em modelos semelhantes ao nosso, chegaram as mesmas conclusões.

Na nossa investigação, avaliamos o efeito de tratamento pela NAC no estresse oxidativo pelo TBARS nos 50 primeiros pacientes estudados. O objetivo foi verificar se a redução da incidência da LRA coincidia no tempo com a redução da geração das EROs, oferecendo assim uma explicação fisiopatológica plausível para o efeito renoprotetor da NAC. Observamos que as EROs aumentaram acentuadamente nas primeiras 24 horas de pós-operatório no grupo Controle, fato não observado nos pacientes tratados pela NAC. A NAC aboliu completamente a geração de EROs ao mesmo tempo que reduziu a incidência da LRA. No grupo restrito de 50 pacientes, a redução da incidência da LRA foi de 57% ( $p=0,03$ ), semelhante a redução observada no grupo total de 70 pacientes. Desta maneira, nossos resultados reforçam o conceito de que a NAC exerce seu efeito renoprotetor, pelo menos em parte, reduzindo a geração das EROs.

## **6 Conclusões**

---

## **6. Conclusões**

- ✓ N-acetilcisteína reduziu a incidência de lesão renal aguda em pacientes com doença renal crônica submetidos à revascularização miocárdica eletiva;
- ✓ Não se observou diferença no tempo de internação em unidade de terapia intensiva e internação hospitalar, morbidade cardiovascular e mortalidade global nos dois grupos estudados e nenhum paciente necessitou de tratamento dialítico;
- ✓ O estresse oxidativo e a elevação dos marcadores de lesão glomerular e tubular foram menores no grupo que utilizou N-acetilcisteína.

## **7 Limitações**

## **7. Limitações**

Reconhecemos que este trabalho apresenta limitações. Trata-se de um estudo unicêntrico e o número de pacientes foi relativamente pequeno. Mais importante, embora dificilmente previsível, o número de eventos renais graves foi menor que o esperado, apesar de termos incluído doentes de alto risco. Este fato impediu verificar se o tratamento pela NAC pode ser eficaz na prevenção da LRA grave. Consequentemente achamos prematuro recomendar o uso rotineiro da NAC na prevenção da LRA na cirurgia cardíaca. Apesar disto, podemos afirmar que nossos dados servem para justificar um estudo com maior número de indivíduos com maior probabilidade de desenvolver complicações renais mais grave.

Por outro lado, esta investigação tem vários pontos positivos incluindo o fato de ter sido aleatorizado, prospectivo e duplo cego, utilizar uma metodologia atual e internacionalmente aceita de definição da LRA, incluir outros marcadores de disfunção renal para validar os achados obtidos com o critério AKIN, ter um seguimento completo e fornecer uma explicação fisiopatológica plausível para o efeito renoprotetor da NAC.

## **8 Referências**

---

## 8. Referências

1. Mangano CM, Diamondstone LS, Ramsay JG, et al. Renal dysfunction after myocardial revascularization: risk factors, adverse outcomes, and hospital resource utilization. The Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group. *Ann Intern Med* 1998;128(3):194-203.
2. Hobson CE, Yavas S, Segal MS, et al. Acute kidney injury is associated with increased long-term mortality after cardiothoracic surgery. *Circulation* 2009;119(18):2444-2453.
3. Amodeo C . Avaliação renal em cirurgia cardíaca. In: *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*. São Paulo: 11; 2001. p. 922-926.
4. Thakar CV, Yared JP, Worley S, et al. Renal dysfunction and serious infections after open-heart surgery. *Kidney Int* 2003;64(1):239-246.
5. Chertow GM, Levy EM, Hammermeister KE, et al. Independent association between acute renal failure and mortality following cardiac surgery. *Am J Med* 1998;104(4):343-348.
6. Liaño F, Pascual J. Epidemiology of acute renal failure: a prospective, multicenter, community-based study. Madrid Acute Renal Failure Study Group. *Kidney Int* 1996;50(3):811-818.
7. Conlon PJ, Stafford-Smith M, White WD, et al. Acute renal failure following cardiac surgery. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14(5):1158-1162.
8. Bahar I, Akgul A, Ozatik MA, et al. Acute renal failure following open heart surgery: risk factors and prognosis. *Perfusion* 2005;20(6):317-322.

9. Boldt J, Brenner T, Lang J, et al. Kidney-specific proteins in elderly patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg* 2003;97(6):1582-1589.
10. Fleming I, Hecker M, Busse R. Intracellular alkalinization induced by bradykinin sustains activation of the constitutive nitric oxide synthase in endothelial cells. *Circ Res* 1994;74(6):1220-1226.
11. Burns KE, Chu MW, Novick RJ, et al. Perioperative N-acetylcysteine to prevent renal dysfunction in high-risk patients undergoing cabg surgery: a randomized controlled trial. *JAMA* 2005;294(3):342-350.
12. Fischer UM, Tossios P, Mehlhorn U. Renal protection by radical scavenging in cardiac surgery patients. *Curr Med Res Opin* 2005;21(8):1161-1164.
13. Hynninen MS, Niemi TT, Pöyhiä R, et al. N-acetylcysteine for the prevention of kidney injury in abdominal aortic surgery: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Anesth Analg* 2006;102(6):1638-1645.
14. Coppolino G, Presta P, Saturno L, et al. Acute kidney injury in patients undergoing cardiac surgery. *J Nephrol* 2013;26(1):32-40.
15. Chertow GM, Lazarus JM, Christiansen CL, et al. Preoperative renal risk stratification. *Circulation* 1997;95(4):878-884.
16. Thakar CV, Arrigain S, Worley S, et al. A clinical score to predict acute renal failure after cardiac surgery. *J Am Soc Nephrol* 2005;16(1):162-168.
17. Thakar CV, Liangos O, Yared JP, et al. ARF after open-heart surgery: Influence of gender and race. *Am J Kidney Dis* 2003;41(4):742-751.
18. Palomba H, de Castro I, Neto AL, et al. Acute kidney injury prediction following elective cardiac surgery: AKICS Score. *Kidney Int* 2007;72(5):624-631.

19. Lassnigg A, Schmidlin D, Mouhieddine M, et al. Minimal changes of serum creatinine predict prognosis in patients after cardiothoracic surgery: a prospective cohort study. *J Am Soc Nephrol* 2004;15(6):1597-1605.
20. LHW G, JJG DL, LAM C, et al. Nível Sérico de Creatinina ou Clearance Estimado de Creatinina como Preditor de Mortalidade em Pacientes Submetidos à Revascularização Miocárdica - Realmente Precisamos da Matemática? In: SOCESP, editor. *XXIV Congresso da SOCESP*. São Paulo: SOCESP; 2008.
21. Ferguson MA, Vaidya VS, Bonventre JV. Biomarkers of nephrotoxic acute kidney injury. *Toxicology* 2008;245(3):182-193.
22. R Z, CMB H, AC S, et al. *Fisiopatologia Renal Aguda*. São Paulo; 2002.
23. Hoste EA, Kellum JA. Acute kidney dysfunction and the critically ill. *Minerva Anesthesiol* 2006;72(3):133-143.
24. Chertow GM, Burdick E, Honour M, et al. Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. *J Am Soc Nephrol* 2005;16(11):3365-3370.
25. Metnitz PG, Krenn CG, Steltzer H, et al. Effect of acute renal failure requiring renal replacement therapy on outcome in critically ill patients. *Crit Care Med* 2002;30(9):2051-2058.
26. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 2007;11(2):R31.
27. Burne-Taney MJ, Rabb H. The role of adhesion molecules and T cells in ischemic renal injury. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2003;12(1):85-90.

28. Friedewald JJ, Rabb H. Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. *Kidney Int* 2004;66(2):486-491.
29. HR B, MB B, MR C, et al. Brenner & Rector's the kidney. 6 ed. Philadelphia; 2000.
30. Star R, Hostetter T, Hortin GL. New markers for kidney disease. *Clin Chem* 2002;48(9):1375-1376.
31. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, et al. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999;130(6):461-470.
32. Simonsen O, Grubb A, Thysell H. The blood serum concentration of cystatin C (gamma-trace) as a measure of the glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest* 1985;45(2):97-101.
33. Grubb A, Simonsen O, Sturfelt G, et al. Serum concentration of cystatin C, factor D and beta 2-microglobulin as a measure of glomerular filtration rate. *Acta Med Scand* 1985;218(5):499-503.
34. Bökenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, et al. Cystatin C--a new marker of glomerular filtration rate in children independent of age and height. *Pediatrics* 1998;101(5):875-881.
35. Dent CL, Ma Q, Dastrala S, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts acute kidney injury, morbidity and mortality after pediatric cardiac surgery: a prospective uncontrolled cohort study. *Crit Care* 2007;11(6):R127.
36. Schmidt-Ott KM. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of acute kidney injury--where do we stand today? *Nephrol Dial Transplant* 2011;26(3):762-764.

37. Mishra J, Ma Q, Prada A, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(10):2534-2543.
38. Molitoris BA, Sutton TA. Endothelial injury and dysfunction: role in the extension phase of acute renal failure. *Kidney Int* 2004;66(2):496-499.
39. Ulus AT, Aksoyek A, Ozkan M, et al. Cardiopulmonary bypass as a cause of free radical-induced oxidative stress and enhanced blood-borne isoprostanes in humans. *Free Radic Biol Med* 2003;34(7):911-917.
40. Driessen JJ, Dhaese H, Fransen G, et al. Pulsatile compared with nonpulsatile perfusion using a centrifugal pump for cardiopulmonary bypass during coronary artery bypass grafting. Effects on systemic haemodynamics, oxygenation, and inflammatory response parameters. *Perfusion* 1995;10(1):3-12.
41. Ysebaert DK, De Greef KE, Vercauteren SR, et al. Identification and kinetics of leukocytes after severe ischaemia/reperfusion renal injury. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15(10):1562-1574.
42. Pahl HL, Baeuerle PA. Oxygen and the control of gene expression. *Bioessays* 1994;16(7):497-502.
43. Arrigo AP. Gene expression and the thiol redox state. *Free Radic Biol Med* 1999;27(9-10):936-944.
44. Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, et al. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(7):1272-1280.
45. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95(2):351-358.

46. Rudnick MR, Kesselheim A, Goldfarb S. Contrast-induced nephropathy: how it develops, how to prevent it. *Cleve Clin J Med* 2006;73(1):75-80, 83-77.
47. Shaw A. Update on acute kidney injury after cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2012;143(3):676-681.
48. Westaby S, Balacumaraswami L, Sayeed R. Maximizing survival potential in very high risk cardiac surgery. *Heart Fail Clin* 2007;3(2):159-180.
49. van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, et al. Intensive insulin therapy in critically ill patients. *N Engl J Med* 2001;345(19):1359-1367.
50. Mehta RL, Pascual MT, Soroko S, et al. Diuretics, mortality, and nonrecovery of renal function in acute renal failure. *JAMA* 2002;288(20):2547-2553.
51. Kunt AT, Akgün S, Atalan N, et al. Furosemide infusion prevents the requirement of renal replacement therapy after cardiac surgery. *Anadolu Kardiyol Derg* 2009;9(6):499-504.
52. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, et al. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. *Cell Mol Life Sci* 2003;60(1):6-20.
53. Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, et al. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Radic Biol Med* 1989;6(6):593-597.
54. Ivanovski O, Szumilak D, Nguyen-Khoa T, et al. The antioxidant N-acetylcysteine prevents accelerated atherosclerosis in uremic apolipoprotein E knockout mice. *Kidney Int* 2005;67(6):2288-2294.
55. Trimarchi H, Mongitore MR, Baglioni P, et al. N-acetylcysteine reduces malondialdehyde levels in chronic hemodialysis patients--a pilot study. *Clin Nephrol* 2003;59(6):441-446.

- 
56. Ziment I. Acetylcysteine: a drug that is much more than a mucokinetic. *Biomed Pharmacother* 1988;42(8):513-519.
  57. Prescott LF, Park J, Ballantyne A, et al. Treatment of paracetamol (acetaminophen) poisoning with N-acetylcysteine. *Lancet* 1977;2(8035):432-434.
  58. Dargan PI, Jones AL. Acetaminophen poisoning: an update for the intensivist. *Crit Care* 2002;6(2):108-110.
  59. Holt S, Goodier D, Marley R, et al. Improvement in renal function in hepatorenal syndrome with N-acetylcysteine. *Lancet* 1999;353(9149):294-295.
  60. Tepel M, van der Giet M, Schwarzfeld C, et al. Prevention of radiographic-contrast-agent-induced reductions in renal function by acetylcysteine. *N Engl J Med* 2000;343(3):180-184.
  61. Ochoa A, Pellizzon G, Addala S, et al. Abbreviated dosing of N-acetylcysteine prevents contrast-induced nephropathy after elective and urgent coronary angiography and intervention. *J Interv Cardiol* 2004;17(3):159-165.
  62. Kay J, Chow WH, Chan TM, et al. Acetylcysteine for prevention of acute deterioration of renal function following elective coronary angiography and intervention: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003;289(5):553-558.
  63. Laville M. Acetylcysteine prevented acute deterioration in renal function after coronary angiography in moderate renal insufficiency. *ACP J Club* 2003;139(2):41.
  64. Investigators A. Acetylcysteine for prevention of renal outcomes in patients undergoing coronary and peripheral vascular angiography: main results from the randomized Acetylcysteine for Contrast-induced nephropathy Trial (ACT). *Circulation* 2011;124(11):1250-1259.

- 
65. Amini M, Salarifar M, Amirbaigloo A, et al. N-acetylcysteine does not prevent contrast-induced nephropathy after cardiac catheterization in patients with diabetes mellitus and chronic kidney disease: a randomized clinical trial. *Trials* 2009;10:45.
  66. Goldenberg I, Shechter M, Matetzky S, et al. Oral acetylcysteine as an adjunct to saline hydration for the prevention of contrast-induced nephropathy following coronary angiography. A randomized controlled trial and review of the current literature. *Eur Heart J* 2004;25(3):212-218.
  67. Adabag AS, Ishani A, Koneswaran S, et al. Utility of N-acetylcysteine to prevent acute kidney injury after cardiac surgery: a randomized controlled trial. *Am Heart J* 2008;155(6):1143-1149.
  68. Haase M, Haase-Fielitz A, Bagshaw SM, et al. Phase II, randomized, controlled trial of high-dose N-acetylcysteine in high-risk cardiac surgery patients. *Crit Care Med* 2007;35(5):1324-1331.
  69. Sisillo E, Ceriani R, Bortone F, et al. N-acetylcysteine for prevention of acute renal failure in patients with chronic renal insufficiency undergoing cardiac surgery: a prospective, randomized, clinical trial. *Crit Care Med* 2008;36(1):81-86.
  70. Naughton F, Wijeyesundera D, Karkouti K, et al. N-acetylcysteine to reduce renal failure after cardiac surgery: a systematic review and meta-analysis. *Can J Anaesth* 2008;55(12):827-835.
  71. Borst C, Jansen EW, Tulleken CA, et al. Coronary artery bypass grafting without cardiopulmonary bypass and without interruption of native coronary flow using a novel anastomosis site restraining device ("Octopus"). *J Am Coll Cardiol* 1996;27(6):1356-1364.

- 
72. Nashef SA, Roques F, Michel P, et al. European system for cardiac operative risk evaluation (EuroSCORE). *Eur J Cardiothorac Surg* 1999;16(1):9-13.
  73. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, et al. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985;13(10):818-829.
  74. Cardiologia SBd, Hipertensão SBd, Nefrologia SBd. [VI Brazilian Guidelines on Hypertension]. *Arq Bras Cardiol* 2010;95(1 Suppl):1-51.
  75. Handelsman Y, Mechanick JI, Blonde L, et al. American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for clinical practice for developing a diabetes mellitus comprehensive care plan: executive summary. *Endocr Pract* 2011;17(2):287-302.
  76. Alpert JS, Thygesen K, Antman E, et al. Myocardial infarction redefined--a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000;36(3):959-969.
  77. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al. Third universal definition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2012;60(16):1581-1598.
  78. CS A, B C, FAH F, et al. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. In. São Paulo: *Arq. Bras. Cardiol*; 2007. p. 2-19.
  79. Gormley SM, McBride WT, Armstrong MA, et al. Plasma and urinary cytokine homeostasis and renal dysfunction during cardiac surgery. *Anesthesiology* 2000;93(5):1210-1216; discussion 1215A.
  80. Kiefer P, Vogt J, Radermacher P. From mucolytic to antioxidant and liver protection: new aspects in the intensive care unit career of N-acetylcysteine. *Crit Care Med* 2000;28(12):3935-3936.

81. Scaduto RC, Gattone VH, Martin LF, et al. Elevation of renal glutathione enhances ischemic injury. *Ren Physiol Biochem* 1991;14(6):259-270.
82. DiMari J, Megyesi J, Udvarhelyi N, et al. N-acetyl cysteine ameliorates ischemic renal failure. *Am J Physiol* 1997;272(3 Pt 2):F292-298.
83. Wang G, Bainbridge D, Martin J, et al. N-acetylcysteine in cardiac surgery: do the benefits outweigh the risks? A meta-analytic reappraisal. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2011;25(2):268-275.
84. Ashworth A, Webb ST. Does the prophylactic administration of N-acetylcysteine prevent acute kidney injury following cardiac surgery? *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2010;11(3):303-308.
85. Adabag AS, Ishani A, Bloomfield HE, et al. Efficacy of N-acetylcysteine in preventing renal injury after heart surgery: a systematic review of randomized trials. *Eur Heart J* 2009;30(15):1910-1917.
86. Nigwekar SU, Kandula P. N-acetylcysteine in cardiovascular-surgery-associated renal failure: a meta-analysis. *Ann Thorac Surg* 2009;87(1):139-147.
87. Ristikankare A, Kuitunen T, Kuitunen A, et al. Lack of renoprotective effect of i.v. N-acetylcysteine in patients with chronic renal failure undergoing cardiac surgery. *Br J Anaesth* 2006;97(5):611-616.
88. Macedo E, Abdulkader R, Castro I, et al. Lack of protection of N-acetylcysteine (NAC) in acute renal failure related to elective aortic aneurysm repair-a randomized controlled trial. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21(7):1863-1869.
89. El-Hamamsy I, Stevens LM, Carrier M, et al. Effect of intravenous N-acetylcysteine on outcomes after coronary artery bypass surgery: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007;133(1):7-12.

90. Wijeyesundera DN, Beattie WS, Rao V, et al. N-acetylcysteine for preventing acute kidney injury in cardiac surgery patients with pre-existing moderate renal insufficiency. *Can J Anaesth* 2007;54(11):872-881.
91. Magro MC, Vattimo MD. Impact of Cystatin C and RIFLE on Renal Function Assessment After Cardiac Surgery. *Biol Res Nurs* 2012.
92. Bäcklund M, Pere P, Lepäntalo M, et al. Effect of intra-aortic magnesium on renal function during and after abdominal aortic surgery: a pilot study. *Acta Anaesthesiol Scand* 2000;44(5):605-611.

## **Apêndices**

**Apêndice A** Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP  
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU  
RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME:.....  
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : ..... SEXO : .M  F   
DATA NASCIMENTO: ...../...../.....  
ENDEREÇO ..... Nº ..... APTO: .....  
BAIRRO: ..... CIDADE .....  
CEP:..... TELEFONE: DDD (.....) .....

2. RESPONSÁVEL LEGAL .....  
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....  
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : ..... SEXO : .M  F   
DATA NASCIMENTO: ...../...../.....  
ENDEREÇO ..... Nº ..... APTO: .....  
BAIRRO: ..... CIDADE .....  
CEP:..... TELEFONE: DDD (.....) .....

**DADOS SOBRE A PESQUISA**

**1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:** N-acetilcisteína na prevenção da lesão renal aguda em pacientes com doença renal crônica submetidos à cirurgia eletiva de revascularização miocárdica: estudo prospectivo, randomizado e duplo-cego.

**PESQUISADOR RESPONSÁVEL:** José Jayme Galvão de Lima

**CARGO/FUNÇÃO:** Médico Assistente

**INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº:** 12827

**UNIDADE DO HCFMUSP:** Unidade de Hipertensão/InCor

**PESQUISADOR EXECUTANTE:** Eduesley Santana Santos

**CARGO/FUNÇÃO:** Enfermeiro

**INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº:** 1788783

**UNIDADE DO HCFMUSP:** Coordenação de Enfermagem/InCor

**3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:**

RISCO MÍNIMO  RISCO MÉDIO   
RISCO BAIXO  RISCO MAIOR

**4. DURAÇÃO DA PESQUISA :** 24 meses

## HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

- 1 – O objetivo desta pesquisa é verificar se o princípio ativo do remédio Fluimucil®, conhecido com o nome científico de N-acetilcisteína, protege os rins de doentes que são operados do coração. O Fluimucil® é um remédio bastante antigo normalmente prescrito para pessoas com resfriado ou bronquite, inclusive para crianças pequenas. Foi observado que, além deste efeito mais comum, o remédio pode também proteger o coração, os rins e outros órgãos de pessoas que são vítimas de traumatismo ou são operadas. Este fato ainda precisa ser provado cientificamente, daí a idéia de testá-la em doentes que serão operados do coração;
- 2 – Nós vamos utilizar o Fluimucil® na mesma dose prescrita para casos de intoxicação por paracetamol (princípio ativo do Tylenol®). O remédio vai ser administrado diluído em soro através de injeção na veia durante a cirurgia de ponte de safena;
- 3 – Nós vamos realizar uma punção em uma das veias do braço e durante este procedimento coletaremos sangue para posterior análise e por essa mesma veia administraremos o Fluimucil®;
- 4 – Alguns indivíduos podem ter reações alérgicas leves como coceira e vermelhidão no corpo, que desaparecem com a interrupção do medicamento. O medicamento poderá ser usado com uma velocidade mais lenta de injeção na veia, para diminuir os riscos dessas reações;
- 5 – Alguns doentes que são operados do coração apresentam problemas renais durante os dias que se seguem à cirurgia. Estes problemas podem retardar a recuperação e fazer com que o doente permaneça mais tempo na Unidade de Recuperação Cardíaca (UTI), com visitas limitadas. Redução da frequência e gravidade desta complicação seria altamente benéfica;
- 6 – Na Unidade de Recuperação Cardíaca já são tomadas todas as medidas possíveis para prevenir esta complicação que, apesar disto, continua ocorrendo.
- 7 – Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr. **José Jayme Galvão de Lima** que pode ser encontrado na Unidade de Hipertensão do InCor na Rua Dr. Enéas Carvalho de Aguiar, nº 44 2º andar Bloco II e no telefone 3069-5084. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: [cappesq@hcnet.usp.br](mailto:cappesq@hcnet.usp.br)
- 8 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;
- 09 – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;
- 10 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;
- 11 – Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa;
- 12 - Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.



## Apêndice B Aprovação do trabalho pela CAPPesq



2009/10/14

# APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 07/10/2009, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0992/09**, intitulado: **"N-ACETILCISTEÍNA NA PREVENÇÃO DE INSUFICIÊNCIA RENAL EM PACIENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA SUBMETIDOS À CIRURGIA DE REVASCULARIZAÇÃO MIOCÁRDICA"** apresentada pela **COMISSÃO CIENTÍFICA DO INCOR**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: **José Jayme Galvão de Lima**

Pesquisador (a) Executante: **Eduesley Santana Santos**

CAPPesq, 08 de Outubro de 2009

  
**Prof. Dr. Eduardo Massad**  
**Presidente da Comissão de**  
**Ética para Análise de Projetos**  
**de Pesquisa**

COMISSÃO CIENTÍFICA  
 RECEBIDO  
 14/10/09  
 Creative