

NILSON ANTUNES

**Influência da ultrafiltração na remoção de mediadores inflamatórios durante circulação extracorpórea e alterações da função orgânica monitorada pelo “Seqüencial Organ Failure Assessment Score – SOFA” em pacientes submetidos à revascularização do miocárdio**

Campinas 2009

Universidade Estadual de Campinas  
Faculdade de Ciências Médicas  
Departamento de Cirurgia

**Influência da ultrafiltração na remoção de mediadores inflamatórios durante circulação extracorpórea e alterações da função orgânica monitorada pelo “Seqüencial Organ Failure Assessment Score – SOFA” em pacientes submetidos à revascularização do miocárdio**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP - para a obtenção do título de Doutor em Medicina - Área de concentração: Pesquisa Experimental.

**Doutorando: Nilson Antunes**

**Orientadora: Profa. Dra. Desanka Dragosavac**

**Co-orientador: Prof. Dr. Luís Alberto Magna**

**Campinas 2009**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

An89i Antunes, Nilson  
Influência da ultrafiltração na remoção de mediadores inflamatórios durante circulação extracorpórea e alterações da função orgânica monitorada pelo “Seqüencial Organ Failure Assessment Score – SOFA” em pacientes submetidos à revascularização do miocárdio/  
Nilson Antunes. Campinas, SP : [s.n.], 2009.

Orientadores : Desanka Dragosavac, Luís Alberto Magna  
Tese ( Doutorado ) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Sangue – circulação extracorporea. 2. Ultrafiltração. 3. Falência de múltiplos órgãos. I. Dragosavac, Desanka. II. Magna, Luís Magna. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

**Título em inglês : Inflammatory mediators and Seqüencial Organ Failure Assessment Score - SOFA outcomes after conventional ultrafiltration during circulatory bypass in patients underwent coronary artery bypass graft**

**Keywords:** • Blood – extracorporeal circulation  
• Ultrafiltration  
• Multiple organ failure  
• Cytokines

**Titulação: Doutor em Cirurgia**

**Área de concentração: Pesquisa Experimental**

**Banca examinadora:**

**Profa. Dra. Desanka Dragosavac**

**Prof. Dr. Sebastião Araújo**

**Prof. Dr. Ivan Felizardo Contrera Toro**

**Prof. Dr. Walter José Gomes**

**Prof. Dr. Antonio Sérgio Martins**

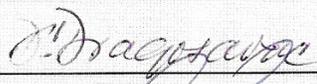
**Data da defesa: 16-09-2009**

## Banca Examinadora da Tese de Doutorado

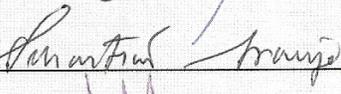
Nilson Antunes

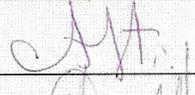
Orientadora: Profa. Dra. Desanka Dragosavac

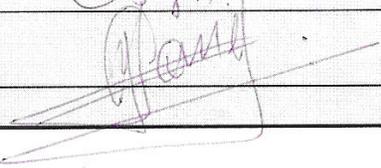
### Membros:

1. Profa. Dra. Desanka Dragosavac - 

2. Prof. Dr. Ivan Felizardo Contrera Toro - 

3. Prof. Dr. Sebastiao Araujo - 

4. Prof. Dr. Antonio Sergio Martins - 

5. Prof. Dr. Walter José Gomes - 

Curso de pós-graduação em Cirurgia, da Faculdade de Ciências Médicas  
da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 16/09/2009

*Se você quer transformar o mundo,  
mexa primeiro em seu interior.*

*(Dalai Lama)*

# ***DEDICATÓRIAS***

Para Márcia, esposa, companheira e parceira de todos os momentos, a quem dedico em todos meus dias o meu amor.

Aos meus filhos, Túlio, Caio, Tamires e Sara, minhas maiores riquezas, sentido maior de minha vida, para quem sou espelho na construção de suas vidas.

Ao meu pai, João Baptista Antunes (em memória) e minha mãe, Isabel da Silveira Antunes que, na simplicidade e limitações de suas vidas, me deram o melhor de si – amor e exemplo de dignidade.

Aos meus oito irmãos, João Carlos, Luís, Vilson, Wilson, Sônia, José Carlos, Cristina e Márcia, com quem compartilhei as dificuldades e as conquistas em nossas vidas e aprendemos a guardar sempre o carinho e afeto por cada um, motivo que nos faz, apesar de tantas diferenças, sermos tão queridos.

Para Ana Maria Moreira, Psicanalista, que me acompanhou ao longo de tantos anos num processo de auto-conhecimento e têm parte importante na conclusão deste trabalho.

Ao Dr. Raymundo Penha Forte Cintra (em memória), com quem trabalhei dos 11 aos 17 anos, e que exerceu forte influência em minha vida me estimulando à leitura e a busca do conhecimento, fazendo uma função que meus pais, pela simplicidade, não puderam me dar.

*A vida nos ensinou que o amor não consiste em olhar um para o outro, mas sim olhar juntos para fora na mesma direção.*

*(Antoine de Saint Exupéry)*

# ***AGRADECIMENTOS***

## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

À Profa. Dra. Desanka Dragosavac, orientadora deste estudo, a quem tive o privilégio de conhecer desde a sua vinda ao Brasil em regime de refugiada durante a guerra na antiga Iugoslávia. Vivenciei cada momento de sua luta para abrir espaço e garantir a possibilidade de trazer seu marido e filhos para um local seguro, onde pudessem reconstruir suas vidas. Mulher de fibra e obstinada, superou todas as dificuldades que se apresentaram e construiu uma sólida carreira no Brasil. Foi uma grande amiga e orientadora em muitos momentos de minha busca pela especialização em perfusão, na minha procura por espaço onde fazer meu mestrado e agora na realização do doutorado. Sou imensamente grato pela confiança depositada em mim na condução deste trabalho. Guardo-a em um local reservado àqueles aos quais chamo de amigos.

"Amigo é coisa para se guardar  
debaixo de sete chaves,  
dentro do coração...  
Amigo é coisa para se guardar  
no lado esquerdo do peito..."

**Fernando Brant e Milton Nascimento**

Para conseguir a amizade de uma pessoa digna  
é preciso desenvolvermos em nós mesmos  
as qualidades que naquela admiramos.

**Sócrates**

À equipe de cirurgia cardíaca da Unicamp da qual honrosamente faço parte, que na sua gênese concebeu um modelo de valorização de todos que nela estão inseridos, criando um verdadeiro conceito de time. Coordenado pelos Profs. Dr. Reinaldo Wilson Vieira e Dr. Domingo Marcolino Braile, formaram os Drs. Orlando Petrucci Júnior, Pedro Paulo Martins de Oliveira, Lindemberg da Mota Silveira Filho, Karlos Alexandre Vilarinho, Elaine Soraya Barbosa de Oliveira Severino e, completando suas formações, Carlos Lavagnoli e André Franchini Fernandes. Contam com Márcio Roberto do Carmo, Anali Galucce Torino, Dalva Regina Carvalho, Lídia Maria Pinto e Renata Viana da Silva. Faço a todos meus agradecimentos de forma ampla, geral e irrestrita, pois este trabalho tem um pouco do entusiasmo, cooperação, entendimento e trabalho de cada um.

Aos amigos anestesistas que trabalham ou trabalharam com a equipe de cirurgia cardíaca na Unicamp, Terezinha (Kekê), Derli, Francisco (Chico), Tazima, Fernando, Paula, Lúcia e Luís, que com seu trabalho e cooperação possibilitaram este estudo.

À minha orientadora, Profa. Dra. Desanka Dragosavac que, além de poder contar com sua experiência e conhecimento em todo o processo de realização deste estudo, pude desfrutar de sua amizade, carinho e disponibilidade.

À Fisioterapeuta Carolina Kosour que foi minha maior colaboradora durante todo o processo de coleta de material. Sem a sua ajuda, este trabalho teria sido quase impossível.

À equipe do banco de sangue do Hospital de Clínicas da Unicamp que, com gentileza, abriram espaço para uso de sua unidade no processo de centrifugação e separação do soro para análise das citocinas.

À Profa. Dra. Maria Heloísa Souza Lima Blotta e Dr. Ronei Luciano Mamone que realizaram as dosagens de citocinas estudadas neste trabalho.

Ao Prof. Dr. Luís Alberto Magna que realizou a análise estatística de todos dados coletados neste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP pelo apoio e financiamento para realização desta pesquisa (processo Nº 00/10706-8)

## Lista de abreviaturas e símbolos

CEC	circulação extracorpórea
SIRS	síndrome de resposta inflamatória sistêmica
TNF- $\alpha$	fator de necrose tumoral alfa
TNF- $\beta$	fator de necrose tumoral beta
IL1- $\alpha$	interleucina 1 alfa
IL1- $\beta$	interleucina 1 beta
IL-6	interleucina 6
IL-8	interleucina 8
C3	complemento 3
C4	complemento 4
C5	complemento 5
C6	complemento 6
C7	complemento 7
C8	complemento 8
C9	complemento 9
C3a	complemento 3 ativado
C4a	complemento 4 ativado
C5a	complemento 5 ativado
IgG	imunoglobulina G
IgM	imunoglobulina M
CAM	complexo de ataque à membrana
LPS	lipopolissacarídeo
IFN- $\gamma$	interferon gama
PAN	poliacrilonitrila
PAM	pressão arterial média

UTI	unidade de terapia intensiva
UF	ultrafiltração convencional
SOFA	<i>sequential organ failure assessment score</i>
PaO <sub>2</sub>	pressão parcial do oxigênio no sangue arterial
CH	concentrado de hemáceas
PFC	plasma fresco congelado
kDa	kiloDalton

# ***RESUMO***

**Objetivo:** Investigar a eficácia da ultrafiltração na remoção de mediadores inflamatórios liberados pela circulação extracorpórea e correlacionar ultrafiltração com alterações da função orgânica de acordo com o “Sequential Organ Failure Assessment Score”.

**Métodos:** Quarenta pacientes foram incluídos e randomizados em dois grupos: “sem ultrafiltração” (n=20; Grupo I) e “ultrafiltração” (n=20; Grupo II). Complementos 3 e 4 ativados, interleucina 1beta, 6, 8 e fator de necrose tumoral alfa foram dosados antes da indução anestésica (T1), 5 minutos antes da circulação extracorpórea (T2), no líquido ultrafiltrado (T3), 30 minutos (T4), 6 (T5), 12 (T6), 24 (T7), 36 (T8) e 48 (T9) horas após término da circulação extracorpórea. “Sequential Organ Failure Assessment Score” foi avaliado nos tempos 1, 6 e 9. Significância estatística foi estabelecida com  $p \leq 0,05$ .

**Resultados:** No líquido ultrafiltrado, apenas níveis de fator de necrose tumoral alfa foram detectados. Níveis de complemento 3 ativado, nos tempos 5 e 7, e complemento 4 ativado, nos tempos 5 e 6, foram significativamente elevados no grupo sem ultrafiltração, e níveis de interleucina 6 foram elevados no grupo ultrafiltrado, nos tempos 7 e 8. Interleucina 1beta, 8, fator de necrose tumoral alfa, e “Sequential Organ Failure Assessment Score” não tiveram diferenças significantes entre os grupos.

**Conclusões:** Ultrafiltração retira significativamente fator de necrose tumoral alfa, mas isto não influencia nos níveis séricos desta citocina. Ultrafiltração com o tipo de filtro usado neste estudo não filtra outros mediadores inflamatórios estudados e não diminui a disfunção orgânica no pós-operatório. Deverá ser usada apenas para controle volêmico nos pacientes submetidos à circulação extracorpórea.

**Descritores:** Circulação extracorpórea. Ultrafiltração. Citocinas. Falência de múltiplos órgãos/etiologia.

# ***ABSTRACT***

**Objective:** To investigate the effectiveness of ultrafiltration in removing inflammatory mediators released by cardiopulmonary bypass and to correlate ultrafiltration with alterations in organ function according to the Sequential Organ Failure Assessment Score.

**Methods:** Forty patients were included and randomized into two groups: “no ultrafiltration” (n=20; Group I) and “ultrafiltration” (n=20; Group II). Activated complement 3 and 4, interleukins 1beta, 6, 8 and tumor necrosis factor alfa were measured prior to anesthesia induction (Time 1), 5 minutes before cardiopulmonary bypass (Time 2), in the ultrafiltered fluid (Time 3), 30 minutes (Time 4), and 6 (Time 5), 12 (Time 6), 24 (Time 7), 36 (Time 8) and 48 (Time 9) hours following cardiopulmonary bypass. Sequential Organ Failure Assessment Score was evaluated at Time 1, 6 and 9. Statistical significance was established at  $p \leq 0.05$ .

**Results:** In the ultrafiltered fluid, only tumor necrosis factor alfa levels were detected. Levels of activated complement 3 at Times 5 and 7 and activated complement 4 at Times 5 and 6 were significantly higher in the unfiltered Group, and levels of interleukin 6 were higher in the filtered Group at Times 7 and 8. Interleukins 1beta, 8, tumor necrosis factor alfa, and the Sequential Organ Failure Assessment score were not significantly different between the groups.

**Conclusions:** Ultrafiltration significantly filtered tumor necrosis factor alfa but did not influence serum levels of this cytokine. Ultrafiltration with the type of filter used in this study had no effect in organ dysfunction and should be used only for volemic control in patients undergoing cardiopulmonary bypass.

Descriptors: Extracorporeal circulation. Ultrafiltration. Cytokines. Multiple organ failure/etiology.

# Sumário

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos	19
Resumo	21
Abstract	25
1- Introdução Geral	31
1.1 Considerações sobre o processo inflamatório	36
1.1.1 Sistema complemento	36
1.1.2 Citocinas	37
1.1.2.1 Interleucina 1	37
1.1.2.2 Interleucina 6	38
1.1.2.3 Interleucina 8	39
1.1.2.4 Fator de Necrose Tumoral	39
1.1.3 Proposições Terapêuticas	40
1.1.4 Ultrafiltração	40
1.1.5 SOFA	44
2- Objetivos	45
3- Artigo	49
4- Discussão Geral	63
5- Conclusões	71
6- Referências	75

# ***1 INTRODUÇÃO***

A Circulação extracorpórea (CEC) foi o elemento que determinou o grande avanço que a cirurgia cardíaca teve em todo o mundo a partir da segunda metade do século XX, tornando-se um procedimento essencial para a abordagem de uma série de cardiopatias, até então, sem possibilidades de correção cirúrgica.

Por ser um procedimento que não mantém os princípios da fisiologia normal, sua utilização rotineira estimulou o estudo das complicações a ela associadas.

O fluxo não pulsátil; o trauma dos elementos do sangue ocasionado pelas bombas de roletes, filtros e aspiradores; as substâncias que são incorporadas ao perfusato; as trocas gasosas modificadas pelos oxigenadores; as variações de temperatura e, sobretudo, a exposição do sangue a superfícies artificiais provocam efeitos sistêmicos adversos que propiciam, a cada dia, esforços no sentido de aperfeiçoar o sistema coração-pulmão artificial.

Apesar de a indústria biomédica ter tido um avanço progressivo na qualidade dos equipamentos e materiais utilizados no conjunto coração pulmão artificial, e embora a mortalidade dos pacientes operados com utilização de CEC atualmente seja baixa, ainda hoje, a CEC não está isenta de complicações, tendo influência direta na morbidade dos pacientes (1).

Está comprovado que a CEC é responsável pelo desenvolvimento de uma síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SIRS), também denominada anteriormente de síndrome pós-perfusão, com presença de leucocitose, aumento da permeabilidade vascular levando ao acúmulo de líquido intersticial, associada a lesões orgânicas, principalmente no coração e pulmões, contribuindo para o aumento da morbidade pós-operatória (1,2).

O principal fator desencadeante da SIRS no paciente submetido à CEC é o contato do sangue com superfícies não endoteliais dos circuitos. Outros fatores, entretanto, são protagonistas importantes, como os períodos de

isquemia e reperfusão tissular, hipotermia e as manipulações do sistema de coagulação (1,2,3).

O contato do sangue com as superfícies não biológicas do circuito extracorpóreo provoca uma reação do sistema humoral e celular sangüíneos, desencadeando a ativação do sistema do complemento, de fatores da coagulação, da fibrinólise, da cascata de caliceínas e dos neutrófilos, ocasionando a liberação de mediadores inflamatórios, que induzem a liberação de enzimas proteolíticas e produção de radicais livres de oxigênio (1,2,4). Dentre os mediadores inflamatórios liberados na SIRS estão as moléculas de adesão (selectinas, integrinas e imunoglobulinas), o óxido nítrico, os produtos do metabolismo do ácido aracdônico (tromboxane A<sub>2</sub>, prostaglandinas e os leucotrienos), o fator ativador plaquetário (PAF) e, principalmente, as citocinas.

As citocinas são glicoproteínas produzidas por uma variedade de células, sobretudo as mononucleares, que agem em nível local e sistêmico, controlando diversos processos de natureza hormonal, imune e inflamatória. Elas funcionam como mensageiros intercelulares e atuam como um dos principais mediadores da resposta inflamatória, sendo responsáveis por lesões vasculares e por disfunções orgânicas verificadas na sepse e após a CEC (5,6).

As citocinas são produzidas na dependência da estimulação por algum agente, havendo pouca ou nenhuma estocagem nas células produtoras. Depois de liberadas, as citocinas agem intermediadas por receptores de membrana específicos, modulando a produção e atividade de outras citocinas, bem como de outras substâncias importantes na resposta inflamatória. A produção de citocinas é estimulada por endotoxinas, sistema complemento ativado, imunocomplexos e por proteínas de superfícies que surgem por dano na integridade do endotélio vascular (7,8).

A CEC, por mecanismos não completamente esclarecidos, acompanha-se de um aumento do teor de endotoxinas circulantes. As endotoxinas são

estimuladores potentes da ativação do complemento e da ativação das células endoteliais que resultam na produção de moléculas reguladoras da adesão leucocitária e do fator tissular. As endotoxinas são também potentes estimuladores da liberação do fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) pelos macrófagos, o que pode explicar a presença de elevados níveis dessa citocina em certos pacientes após a CEC. Admite-se que o aumento transitório das endotoxinas deve-se à associação do estresse da perfusão, à inibição das células de Kupffer e ao aumento da absorção de bactérias intestinais (9).

Quando pequenas quantidades de citocinas são liberadas nos tecidos, predominam os efeitos benéficos, determinando uma ativação dos mecanismos de defesa do organismo contra o agente agressor, mas a produção excessiva desses mediadores provoca efeitos maléficos ao organismo (10).

O TNF $\alpha$ , a interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), a interleucina 6 (IL-6) e a interleucina 8 (IL-8) são exemplos de citocinas que estão mais envolvidas na SIRS pós CEC, sendo liberadas em função da ativação do sistema complemento, após contato do sangue com a superfície artificial do circuito extracorpóreo ou por ação de endotoxinas, causando importantes alterações fisiopatológicas ao organismo (11,12).

HOLZHEIMER *et al.* (13) estudaram a detecção simultânea de TNF $\alpha$  e IL-6 e demonstraram que estas citocinas produzidas pelos neutrófilos ativados estimulam a adesão dos neutrófilos nos miócitos cardíacos, exercendo um importante papel na mediação dos danos miocárdicos verificados após a CEC.

HENNEIN *et al.* (14) relacionaram os níveis séricos de TNF $\alpha$ , IL-6 e IL-8 com as alterações da função ventricular esquerda e isquemia miocárdica, e sugeriram que estas citocinas são responsáveis pela depressão miocárdica no pós-operatório de pacientes operados com CEC.

BRASIL *et al.*(15) compararam pacientes submetidos à revascularização do miocárdio com e sem uso de CEC, demonstrando a presença de TNF $\alpha$  em

60% dos pacientes que utilizaram CEC, contra 0% do grupo sem uso de CEC, demonstrando o papel da CEC na ativação do TNF $\alpha$ . Além disso, os pacientes que foram submetidos à CEC evoluíram com hipotensão arterial mais acentuada, havendo maior necessidade do uso de drogas vasoativas, apresentaram frequência cardíaca e temperatura mais elevadas, maior sangramento pós-operatório, tempo de intubação orotraqueal mais prolongado e maior leucocitose.

## **1.1 Considerações sobre o Processo Inflamatório**

### **1.1.1 Sistema Complemento**

O sistema complemento é o principal mediador humoral do processo inflamatório junto aos anticorpos. Está constituído por um conjunto de proteínas, tanto solúveis no plasma como expressas na membrana celular, e é ativado por diversos mecanismos por duas vias, a clássica e a alternativa.

Tal mecanismo é composto de cerca de vinte proteínas do plasma (16) que funcionam como enzimas ou como proteínas de ligação. Além dessas proteínas, a cascata do complemento envolve, em seu mecanismo, receptores de superfície celular distintos e múltiplos, que exibem especificidade para os fragmentos fisiológicos das proteínas do complemento, e tais receptores são encontrados em células inflamatórias e em células do sistema imunológico. Existem também várias proteínas que atuam como reguladoras da membrana e que funcionam para prevenir a ativação autóloga do complemento e protegem as células do hospedeiro contra ataques acidentais do complemento (17).

Duas diferentes vias podem ser ativadas, concomitante ou isoladamente, para desencadear a cascata do complemento:

- a) via clássica;
- b) via alternativa ou properdina.

A via clássica do complemento é ativada pela ligação de moléculas de anticorpos (especificamente IgM e IgG1, 2 e 3) com uma partícula estranha. Esta via é anticorpo-dependente. A via alternativa ou properdina parece ser de importância principal na defesa do hospedeiro contra infecção bacteriana, porque, diferente da via clássica, é ativada pela invasão de micro-organismos e não requer em seu mecanismo a presença de anticorpos. Constituindo-se em um mecanismo humoral de defesa natural contra infecções, tem como mecanismo de inicialização seis proteínas: C3, B, D, H, I e P, que, além de desencadear, executam as funções de reconhecimento e de ativação desta via, resultando na formação de ativadores de ligação C3/C5 convertase (18).

A ativação da cascata por qualquer das vias do complemento conduz à fragmentação de C3, C4 e C5 em peptídeos de baixo peso molecular, como C3a, C4a, e C5a, em ambas as vias (19), e isto se dá por ação de uma enzima inicial que catalisa a formação da C3 convertase que, por sua vez, gera o C5 convertase. O resultado será a divisão e ativação de C5 e, então, a montagem do complexo de ataque à membrana (CAM) (20). O CAM é composto de cinco proteínas precursoras, hidrófilas: C5, C6, C7, C8 e C9. A ativação do CAM ou é uma consequência da atividade da via clássica ou da via alternativa na superfície de uma célula. Os eventos finais (21,22) são o desdobramento, ou a oligomerização, ou a polimerização do C9 que causa o enfraquecimento da estrutura da membrana celular e a formação de canais transmembrana que conduzem assim à lise osmótica da célula (23,24,25,26)

## **1.1.2 Citocinas**

### **1.1.2.1 Interleucina 1**

É uma citocina pró-inflamatória e existem basicamente duas formas de IL-1: alfa e beta. Os genes que codificam para as duas formas foram clonados e seqüenciados, verificando-se que são distintos. As duas moléculas possuem

peso molecular aproximado de 17 kDa, mas diferem no ponto isoelétrico e possuem apenas 35% de homologia de aminoácidos. Os principais produtores de IL-1 são: macrófagos ativados por LPS (endotoxinas), TNF e IFN- $\gamma$ . A produção de IL-1 $\beta$  é cerca de cinco vezes mais que a IL- $\alpha$ . Os principais efeitos inflamatórios da IL-1 sobre as células e tecidos são: ativação de macrófagos; estimulação da síntese de prostaglandinas por macrófagos e fibroblastos; quimiotaxia para neutrófilos polimorfonucleares; indução de febre por estimular células hipotalâmicas a sintetizar prostaglandinas e estimulação para absorção óssea.

### **1.1.2.2 Inteleucina 6**

A IL- 6 é uma citocina pró-inflamatória de cerca de 26 kDa sintetizada por macrófagos, células endoteliais, fibroblastos, osteoblastos e outras células. Ela está relacionada à produção e liberação de proteínas de fase aguda dos hepatócitos (proteína reativa C, selectinas) e pode induzir febre e causar a liberação de hormônio adrenocorticotrófico. Depois de cirurgias, a concentração de IL-6 no soro eleva-se dentro de 2 a 4 horas após a incisão cirúrgica e a intensidade da resposta correlaciona-se com a duração da cirurgia. A IL-6 pode ser um marcador de dano tissular e seus níveis pode ser um prognóstico de choque séptico, pois existe uma correlação comprovada entre suas concentrações e o grau de gravidade do quadro clínico do paciente. De modo similar, ocorre a resposta à CEC. Este padrão de resposta é consistente com o papel de um mediador importante na resposta de fase aguda e parece ser um indicador mais preciso da evolução do estado do paciente (27,28)

Estudos demonstram que a IL-6 aumenta significativamente no plasma durante as primeiras horas a partir do início da CEC e que há uma correlação entre seus níveis plasmáticos e mortalidade em pacientes pós-CEC: quanto maiores os níveis de IL-6 medidos, maior a probabilidade de morte (29,30,31). Ela também têm sido detectada em níveis maiores que os níveis basais

normais em pacientes portando insuficiência cardíaca congestiva e, da mesma maneira, seus níveis foram bons preditores independentes de mortalidade (32).

CASEY(33), em estudo experimental, sugere que a IL-6 seria mais marcador que um mediador, representando o grau de inflamação ativa das células endoteliais. Curiosamente, parece existir uma correlação inversa entre as concentrações de IL-6 e de lipídios no plasma, o que também poderia explicar a variabilidade dos resultados obtidos de estudo para estudo. O mecanismo proposto para explicar o fato é a neutralização da endotoxina pela fixação de lipídios, sobretudo os de alta densidade.

### **1.1.2.3 Inteleucina 8**

A interleucina 8, citocina pró-inflamatória, apresenta um peso molecular de aproximadamente 8 kDa, podendo ser sintetizada por linfócitos T, monócitos, células endoteliais e fibroblastos. A IL-8 induz alterações em moléculas da superfície de neutrófilos, favorecendo a adesão firme ao endotélio. Além disso, é um dos principais fatores quimiotáticos para neutrófilos.

### **1.1.2.4 Fator de Necrose Tumoral**

Existem duas formas de TNF: alfa e beta. O TNF- $\alpha$  é produzido por fagócitos mononucleares, como monócitos e macrófagos, principalmente quando ativados. O TNF- $\beta$  também é conhecido como linfoxina e é produzido por linfócitos T. Os principais efeitos inflamatórios do TNF são:

- estimulação da expressão de moléculas de adesão por células endoteliais, tornando-as próprias para a adesão por neutrófilos polimorfonucleares e subseqüentemente por monócitos e linfócitos;
- ativação da capacidade citocida de neutrófilos e monócitos;

- estimula a produção de IL-1 e IL-6 e outras citocinas;
- age sobre células do hipotálamo, estimulando a síntese de prostaglandinas e, assim, induzindo a febre;
- estimula a reabsorção óssea, mas em proporções menores que a IL-1.

### **1.1.3 Proposições Terapêuticas**

Várias propostas terapêuticas têm sido feitas para reduzir a resposta inflamatória sistêmica desencadeada pela CEC:

- bloqueio do sistema do complemento por anticorpos específicos (34,35), ou receptores solúveis do complemento (36,37,38,39,40,41), ou antiinflamatórios(42,43,44,45,46,47);
- cobertura interna das membranas do circuito de circulação extracorpórea com heparina (48,49,50,51,52,53);
- atenuação ou depleção de neutrófilos (54,55,56,57,58,59);
- eliminação de anafilotoxinas e mediadores inflamatórios pela ultrafiltração (60,61,62);
- circulação extracorpórea, excluindo-se o oxigenador (63,64,65,66,67,68).

### **1.1.4 Ultrafiltração**

A hemofiltração foi introduzida na prática clínica na década de 1970 por HENDERSON *et al.* (69), que descreveram uma terapêutica para pacientes renais, denominando-a de ultrafiltração, usando membranas mais permeáveis a solutos pequenos e à água que as membranas habituais de hemodiálise. A técnica foi inicialmente denominada diafiltração e, só depois, mais adequadamente, hemofiltração.

A hemofiltração arteriovenosa foi empregada simultaneamente à CEC, pela primeira vez, por ROMAGNOLI *et al.* (70) com o objetivo de retirar o excesso de água de um paciente submetido à revascularização miocárdica.

A membrana de hemofiltração é uma estrutura composta que consiste em uma capa fina interna adjacente ao fluxo do sangue e externamente cercada por uma estrutura de suporte cilíndrico que mantém sua integridade mecânica, sem restringir a passagem de água ou de qualquer soluto pequeno o bastante para atravessar os poros da capa interna. Apresenta canais relativamente retos, de diâmetro sempre crescente e que oferecem pouca resistência ao fluxo de fluidos. Os hemofiltros não oferecem obstáculo à transferência de solutos com menos de 100 Daltons (por exemplo, uréia, creatinina, ácido úrico, sódio, potássio, cálcio ionizado e quase todas as drogas não ligadas a proteínas do plasma), mas são impermeáveis à albumina e a outros solutos maiores que 50.000 Daltons (71,72).

Existem diversas membranas utilizadas para ultrafiltração disponíveis no mercado. Basicamente são divididas quanto à sua origem: biológica ou sintética. As membranas biológicas são originárias da celulose e têm apresentação variada dependendo de sua composição. As mais frequentes são acetato de celulose e cuprofano. As membranas sintéticas também apresentam uma grande variedade de apresentações, mas basicamente originadas de poliamida, polisulfona e poliacrilonitrila.

A hemoconcentração ou ultrafiltração como será denominada doravante, é um processo que utiliza filtros de altíssima permeabilidade, objetivando o transporte de água e solutos transmembrana do meio de maior pressão para o meio de menor pressão. Dois mecanismos são utilizados para otimizar o transporte de água: aumento da pressão hidrostática do compartimento sangüíneo (estreitando-se a linha de saída de sangue do filtro), ou impondo pressão negativa no compartimento de líquido filtrado. Algumas membranas de alta permeabilidade permitem a passagem de uma moderada quantidade de moléculas com peso molecular semelhante ao da maioria das citocinas (10 a 100 Dalton). Além disso, algumas membranas sintéticas, como a poliacrilonitrila (PAN), adsorvem algumas citocinas e componentes do complemento. No

entanto, apesar da melhor biocompatibilidade e da capacidade adsorptiva, mesmo membranas como a PAN induzem a produção de citocinas.

A ultrafiltração tem sido utilizada com freqüência nos pacientes com comprometimento da função renal e/ou cardíaca, que apresentam grande volume de líquido corporal com perda para o terceiro espaço. Seu resultado neste aspecto é altamente eficiente, melhorando o balanço hidro-eletrolítico, diminuindo edema e equilibrando a sua hemodinâmica.

A ultrafiltração como mecanismo de eliminação de fatores da cadeia inflamatória tem sido empregada por vários autores em pacientes com choque séptico (62,73,74,75), porém com resultados variados, não havendo, pois, um consenso quanto à sua real eficácia com este propósito.

NAIK *et al* (76), utilizando um circuito venovenoso modificado em 50 crianças submetidas a cirurgia cardíaca, observou uma maior hemoconcentração, um menor sangramento e uma elevação da pressão arterial quando comparados à ultrafiltração convencional. HEINNEN *et al* (14) utilizando também um circuito venovenoso de ultrafiltração posto em funcionamento ao final da CEC, observaram que os níveis de TNF $\alpha$ , durante a CEC, sofriam uma consistente redução através de ambos os circuitos, o venovenoso e a ultrafiltração arteriovenosa convencional. A IL 1 $\beta$  também aumentou durante a CEC, mas seu comportamento foi extremamente variável quando comparado com o do TNF $\alpha$ .

BANDO *et al.* (77) observaram que parâmetros respiratórios, como tempo de suporte ventilatório e pressão parcial de oxigênio no sangue arterial (PaO<sub>2</sub>), em pacientes submetidos à operação cardíaca para correção de cardiopatias congênitas complexas nos quais foi empregado o circuito de ultrafiltração venovenosa modificada, foram melhores que no grupo controle.

Também encontramos grande utilização da ultrafiltração nas operações de crianças de baixo peso, com uso de CEC, onde o volume do *priming* é geralmente maior que o volume corporal. Ungerleider (78), em seu trabalho, afirma que ultrafiltração modificada em CEC para crianças reduz água corporal total e níveis séricos de mediadores inflamatórios, resultando na elevação do

hematócrito, sem a necessidade de transfusão, e melhorando a complacência pulmonar no pós-operatório imediato.

Wang *et al.* (79) comparando o sistema de ultrafiltração convencional com modificada, concluíram que não há diferença na eficácia de remoção de mediadores inflamatórios gerados durante a CEC entre os dois modelos propostos, e que ambos foram mais eficientes na remoção do TNF $\alpha$  que outros mediadores.

Millar *et al.* (80), demonstraram que a ultrafiltração reduz o aumento de níveis de TNF $\alpha$ , IL-6 e IL-8 em crianças submetidas à CEC. Journois *et al.* (81) demonstraram também a redução da perda de sangue, do tempo de extubação, dos níveis de C3a, C5a, IL-6, TNF $\alpha$ , e melhora da oxigenação, aumento da pressão arterial média (PAM), fatores de coagulação, níveis de antitrombina III, mas não encontraram diferença na IL-8 ou no tempo de permanência na unidade de terapia intensiva (UTI), em estudo onde compararam dois grupos de pacientes submetidos à CEC, sendo um com uso de UF e outro sem.

Apesar da controvérsia quanto à remoção dos fatores pró-inflamatórios pela ultrafiltração, a melhora nas condições hemodinâmicas e nos parâmetros respiratórios é uma observação constante na maioria dos relatos, e tal fato talvez seja decorrente mais da retirada do excesso de líquidos e conseqüente hemoconcentração, do que pela retirada de alguns elementos do mecanismo inflamatório (82,83,84,85).

Por todas as controvérsias existentes na literatura e pela importância do controle do processo inflamatório sistêmico que se instala em uma parcela considerável dos pacientes submetidos à CEC, elevando a morbi-mortalidade deste procedimento (86), julgamos pertinente investigar também o papel que a ultrafiltração pode exercer na prevenção ou redução deste processo, pois seu emprego é prático e de fácil realização no momento de uma cirurgia, não interferindo no procedimento cirúrgico e não causando qualquer alteração hemodinâmica no paciente.

### 1.1.5 SOFA

O SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*) é um escore elaborado para descrever quantitativa e objetivamente a seqüência de complicações de um paciente crítico, avaliando a função individual de cada órgão isoladamente (87). O índice de SOFA aplicado avalia seis órgãos e sistemas do corpo humano: o sistema respiratório ( $PaO_2/FiO_2$ ), sistema nervoso central (escala de coma de Glasgow), fígado (concentração de bilirrubina), coagulação (número de plaquetas), renal (concentração de creatinina) e cardiovascular (nível de hipotensão). O cálculo do SOFA foi realizado conforme os parâmetros abaixo, sendo que o resultado final é a somatória dos pontos obtidos em cada órgão ou sistema avaliado:

PONTUAÇÃO SISTEMA	0	1	2	3	4
<b>Respiratório</b> $PaO_2/FiO_2$ (mmHg)	>400	£ 400	£ 300	£ 200 e ventilação mecânica	£ 100 e ventilação mecânica
<b>Hematológico</b> Plaquetas $mm^3$	>150	£ 150	£ 100	£ 50	£ 20
<b>Hepático</b> Bilirubina (mg/dL)	<1,2	1,2 - 1,9	2,0 - 5,9	6,0 – 11,9	> 12,0
<b>Cardiovascular</b>		PAM < 70 mmHg	Dopamina ou DobutaminaB <5ug/kg/min	Dopa <sup>3</sup> 5 ADR £ 0,1 NOR £ 0,1 ug/kg/min	Dopa > 15 ADR > 0,1 NOR > 0,1 ug/kg/min
<b>Neurológico</b> Glasgow	15	13 – 14	10 - 12	6 - 9	< 6
<b>Renal</b> Creatinina (mg/dL) Débito Urinário	< 1,2	1,2 – 1,9	2,0 – 3,4	3,5 – 4,9 ou <500ml/dia	> 5,0 ou <200ml/dia

# ***2 OBJETIVOS***

- 1- Investigar a eficácia da ultrafiltração na remoção de mediadores inflamatórios liberados pela circulação extracorpórea.
- 2- Correlacionar ultrafiltração com alterações da função orgânica de acordo com o “Sequential Organ Failure Assessment Score”.

# ***3 ARTIGO***

Artigo Original



Ultrafiltração para remover mediadores inflamatórios durante circulação extracorpórea na revascularização do miocárdio

The use of ultrafiltration for inflammatory mediators removal during cardiopulmonary bypass in coronary artery bypass graft surgery

Nilson ANTUNES<sup>1</sup>, Desanka DRAGOSAVC<sup>2</sup>, Orlando PETRUCCI JUNIOR<sup>3</sup>, Pedro Paulo Martins de OLIVEIRA<sup>4</sup>, Carolina KOSOUR<sup>5</sup>, Maria Heloisa Souza Lima BLOTTA<sup>6</sup>, Domingo Marcolino BRAILE<sup>7</sup>, Reinaldo Wilson VIEIRA<sup>8</sup>

Página 175 à 182

**Descritores:** Circulação extracorpórea. Ultrafiltração. Citocinas. Falência de múltiplos órgãos/etiologia.

**Descriptors:** Extracorporeal circulation. Ultrafiltration. Cytokines. Multiple organ failure/etiology.

Resumo:

**Objetivo:** Investigar a eficácia da ultrafiltração na remoção de mediadores inflamatórios liberados pela circulação extracorpórea e correlacionar ultrafiltração com alterações da função orgânica de acordo com o "Sequential Organ Failure Assessment Score". **Métodos:** Quarenta pacientes foram incluídos e randomizados em dois grupos: "sem ultrafiltração" (n=20; Grupo I) e "ultrafiltração" (n=20; Grupo II). Complementos 3 e 4 ativados, interleucina 1beta, 6, 8 e fator de necrose tumoral alfa foram dosados antes da indução anestésica (T1), 5 minutos antes da circulação extracorpórea (T2), no líquido ultrafiltrado (T3), 30 minutos (T4), 6 (T5), 12 (T6), 24 (T7), 36 (T8) e 48 (T9) horas após término da circulação extracorpórea. "Sequential Organ Failure Assessment Score" foi avaliado nos tempos 1, 6 e 9. Significância estatística foi estabelecida com  $p \leq 0,05$ . **Resultados:** No líquido ultrafiltrado, apenas níveis de fator de necrose tumoral alfa foram detectados. Níveis de complemento 3 ativado, nos tempos 5 e 7, e complemento 4 ativado, nos tempos 5 e 6, foram significativamente elevados no grupo sem ultrafiltração, e níveis de interleucina 6 foram elevados no grupo ultrafiltrado, nos tempos 7 e 8. Interleucina 1beta, 8, fator de necrose tumoral alfa, e "Sequential Organ Failure Assessment Score" não tiveram diferenças significantes entre os grupos. **Conclusões:** Ultrafiltração filtra significativamente fator de necrose tumoral alfa, mas isto não influencia nos níveis séricos desta citocina. Ultrafiltração com o tipo de filtro usado neste estudo não tem efeito na disfunção orgânica e deverá ser usada apenas para controle volêmico nos pacientes submetidos à circulação extracorpórea.

Abstract:

**Objective:** To investigate the effectiveness of ultrafiltration in removing inflammatory mediators released by cardiopulmonary bypass and to correlate ultrafiltration with alterations in organic function according to the Sequential Organ Failure Assessment Score. **Methods:** Forty patients were included and randomized into two groups: "no ultrafiltration" (n=20; Group I) and "ultrafiltration" (n=20; Group II). Activated complement 3 and 4, interleukins 1beta, 6, 8 and tumor necrosis factor alfa were measured prior to anesthesia induction (Time 1), 5 minutes before cardiopulmonary bypass (Time 2), in the ultrafiltrated fluid (Time 3), 30 minutes (Time 4), and 6 (Time 5), 12 (Time 6), 24 (Time 7), 36 (Time 8) and 48 (Time 9) hours following cardiopulmonary bypass. Sequential Organ Failure Assessment Score was evaluated at Time 1, 6 and 9. Statistical significance was established at  $p \leq 0.05$ . **Results:** In the ultrafiltrated fluid, only

tumor necrosis factor alfa levels were detected. Levels of activated complement 3 at Times 5 and 7 and activated complement 4 at Times 5 and 6 were significantly higher in the unfiltered Group, and levels of interleukin 6 were higher in the filtered Group at Times 7 and 8. Interleukins 1beta, 8, tumor necrosis factor alfa, and the Sequential Organ Failure Assessment score were not significantly different between the groups. **Conclusions:** Ultrafiltration significantly filtered tumor necrosis factor alfa but did not influence serum levels of this cytokine. Ultrafiltration with the type of filter used in this study had no effect in organic dysfunction and should be used only for volemic control in patients undergoing cardiopulmonary bypass.

---

## INTRODUCTION

Patients who undergo cardiac surgery with the use of extracorporeal circulation (ECC) suffer a systemic inflammatory reaction, previously referred to as post-perfusion syndrome [1], and now called systemic inflammatory response syndrome (SIRS). The most common causes of SIRS include: surgical trauma, contact of the blood with non-endothelial surfaces, cardiac reperfusion and lung injury from ventilation during anesthesia. These causes activate a variety of biological systems, such as the complement cascade, coagulation, fibrinolysis, and the cellular and humoral immune system. Clinically, this post-ECC SIRS affects pulmonary, renal, cerebral and cardiac functions. SIRS manifests with fever, tachycardia, arterial hypotension, leukocytosis, coagulopathy, susceptibility to infections, and changes in vascular permeability leading to the accumulation of interstitial fluid, vasoconstriction and hemolysis [2]. In addition, 1-2% of all cases are linked to multiple organ dysfunction syndrome [3].

Tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin 6 (IL-6) and interleukin 8 (IL-8) are the cytokines most involved in post-ECC SIRS. These cytokines are released by activation of the complement system following contact of the blood with the artificial surface of the extracorporeal circuit or through the action of endotoxins. The cytokine release causes significant pathophysiological changes in the organism [4,5]. Ultrafiltration in ECC has been proposed as a means of removing inflammatory mediators.

## METHODS

A prospective, randomized, observational study was carried out in 40 patients who had cardiac artery bypass graft (CABG) surgery. They were assigned to one of two groups according to an alternating designation: no ultrafiltration (n=20) or ultrafiltration (n=20) during ECC (Table 1). The protocol was approved by the Internal Review Board of the institution and each patient gave his/her signed informed consent prior to admission.

**Table 1. Clinical characteristics of the 40 patients who underwent cardiac artery bypass graft (CABG) surgery.**

Characteristics	Group I	Group II	p
Gender	16 M; 4 F	15 M; 5 F	ns
Age (years)	59.85 ± 9.9	59.25 ± 9.7	ns
Body surface area(m <sup>2</sup> )	1.77 ± 0.24 m <sup>2</sup>	1.86 ± 0.14 m <sup>2</sup>	ns
EuroSCORE logistic(%)	2.16 ± 1.56 %	1.89 ± 1.50 %	ns
<b>Duration of</b>			
ECC (minutes)	74.85 ± 17.6	72.40 ± 18.9	ns
<b>Duration of aortic</b>			
clipping (minutes)	49 ± 11.6	45.50 ± 10.9	ns
<b>Duration of myocardial</b>			
ischemia (minutes)	22.35 ± 9.4	24.45 ± 7.0	ns
<b>Number of grafts</b>	2.9 ± 1.0	3.1 ± 0.8	ns

*M = male; F = female; ns = not statistically significant; Group I - no ultrafiltration, Group II - with ultrafiltration*

Exclusion criteria were: emergency surgery, acute myocardial infarction (AMI) less than three months previously, unstable angina, uncontrolled diabetes mellitus, inflammatory diseases, cardiac ejection fraction < 30%, creatinine level > 2.0 mg/dL, total bilirubin level > 2.5 mg/dL, use of acetylsalicylic acid, corticosteroids or any kind of non-hormonal anti-inflammatory medication less than 7 days prior to surgery, Glasgow Coma Scale < 10, ileus or recent bleeding from the upper digestive tract.

The following demographic information was collected on the patients: gender, age, body surface area, surgical logistic risk score (EuroSCORE) [6], duration of ECC, duration of aortic clamping, duration of myocardial ischemia, and number of coronary grafts received. Standard techniques were used for anesthesia and ECC. Methylprednisolone at the dose of 30 mg/kg was administered shortly after induction of anesthesia in all patients. In the group in which ultrafiltration was to be carried out, a polyacrylonitrile (PAN) synthetic membrane filter (650 SF 1.3 - Laboratórios B. Braun S.A., Rio de Janeiro, Brazil) was installed in the recirculation line between the venous reservoir and the oxygenator. The rate of ultrafiltration was controlled at 1000 mL/hr and done during the entire period of ECC.

Patients received heparin prior to ECC using a dose of 400 IU/kg and additional doses were administered as necessary to maintain the activated coagulation time (ACT) > 500 seconds. ECC was initiated with a flow of 2.4 - 2.6 l/min/m<sup>2</sup>, and mild systemic hypothermia (32-33°C) was induced in all patients and monitored through a nasopharyngeal sensor. Following aortic clamping, cardiac arrest was achieved using antegrade warm blood cardioplegia. Distal anastomoses were created the aortic clamp was removed, and the proximal anastomoses in the aorta were completed during the re-warming period. ECC was terminated during re-warming when the nasopharyngeal temperature reached 37°C, and heparin was neutralized using protamine sulphate.

#### **Parameters analyzed**

The Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score [7] used in this study evaluates six organs and systems based on the following measures: the respiratory system (the ratio of arterial oxygen tension to fractional inspired oxygen concentration - PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>), the central nervous system (Glasgow Coma Scale), the liver (bilirubin level), coagulation (number of platelets), the kidneys (concentration of creatinine) and the cardiovascular system (level of hypotension). Calculation of the SOFA score was made according to the parameters below and the final result was the sum of the points obtained for each organ or system evaluated:

1. PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>: above 401: 0 points; 400 - 301: 1 point; 300 - 201: 2 points; 200 - 101 with respiratory support: 3 points; below 100 with respiratory support: 4 points.
2. Platelets (x 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>): above 150: 0 points; 149 - 101: 1 point; 100 - 51: 2 points, 50 - 21: 3 points; below 20: 4 points.
3. Bilirubin (mg/dL): below 1.2: 0 points; 1.2-1.9: 1 point; 2.0-5.9: 2 points; 6.0-11.9: 3 points; above 12: 4 points.
4. Hypotension: no hypotension: 0 points; mean arterial pressure (MAP) < 70 mmHg: 1 point; dopamine < 5 µg/kg/min or dobutamine (any dose): 2 points; dopamine 5 - 14 µg/kg/min or noradrenalin d" 0.1 µg/kg/min: 3 points; dopamine > 15 µg/kg/min or noradrenalin > 0.1 µg/kg/min: 4 points.
5. Glasgow Coma Scale: 15: 0 points; 13-14: 1 point; 10-12: 2 points; 6-9: 3 points; < 6: 4 points.
6. Creatinine: (mg/dL): below 1.2: 0 points; 1.2-1.9: 1 point; 2.0-3.4: 2 points; 3.5-4.9 or urinary volume 21 - 500 mL/day: 3 points; > 5.0 or urinary volume below 20 mL/day: 4 points.

### Laboratory parameters

Serial samples of arterial blood were collected from a radial artery, punctured to monitor mean arterial pressure. Arterial blood was analyzed to measure cytokines, complement, platelets, bilirubin and creatinine prior to induction of anesthesia (T1), 5 minutes before the start of ECC (T2), 30 minutes (T4), and 6 (T5), 12 (T6), 24 (T7), 36 (T8) and 48 (T9) hours after the end of ECC. Measurement of plasma levels of cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-8) was carried out using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA; Duoset Kit, R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA). IL-1 $\beta$  was assessed using an ultra-sensitive kit (sensitivity 0.1 pg/mL), (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA). C3a and C4a were measured by immunonephelometry (BN Prospec, Dade Behring) in serum samples and the results were expressed as g/L. The normal reference values applied for serum were C3a: 0.9 - 1.8 g/L and C4a: 0,1- 0,4 g/L. Gasometry was performed using an ABL3 apparatus (Radiometer, Copenhagen, Denmark). A sample of the ultrafiltered fluid was collected (T3) to measure the levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, C3a and C4a from the patients whose serum had undergone ultrafiltration. Creatinine and bilirubin were measured at T1, T6, T7, T8 and T9. Platelet count was carried out at all time-points except T3.

### Statistical analysis

The two groups were evaluated using parametric tests: analysis of variance, Student's t-test and chi-squared test for unpaired samples. For the evaluation of interleukins and activated complement, the Mann-Whitney test was applied. Differences were considered significant when p<0.05. The GraphPad Prism software package, version 3.00 for Windows (GraphPad Software, San Diego, California, USA, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com)) was used in the analysis.

## RESULTS

The results obtained with serum measurements of C3a and C4a, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 and TNF- $\alpha$  are shown in Figures 1 to 6.

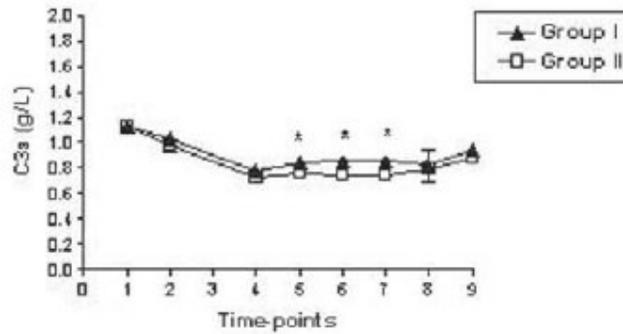


Fig. 1 - C3a over time. Group 1 - no ultrafiltration; Group II - with ultrafiltration. \* statistically significant

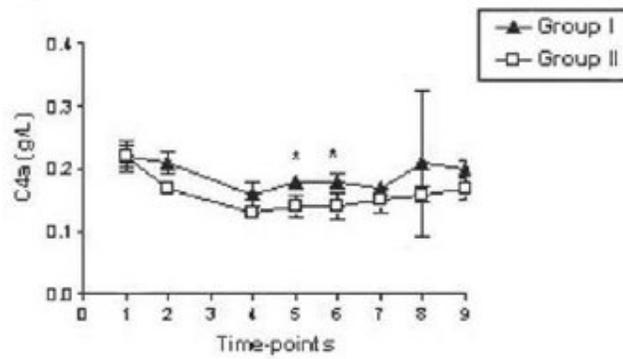


Fig. 2 - C4a values over time. Group 1 - no ultrafiltration; Group II - with ultrafiltration. \* statistically significant

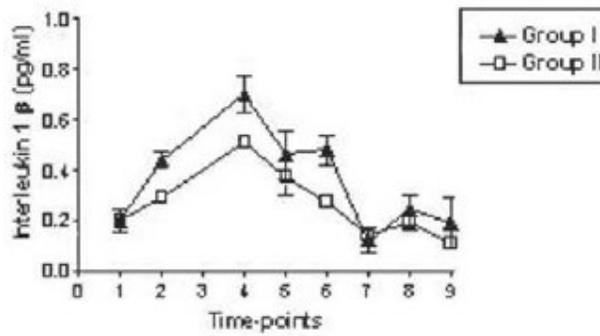


Fig. 3 - Interleukin 1-β values over time. Group 1 - no ultrafiltration; Group II - with ultrafiltration.

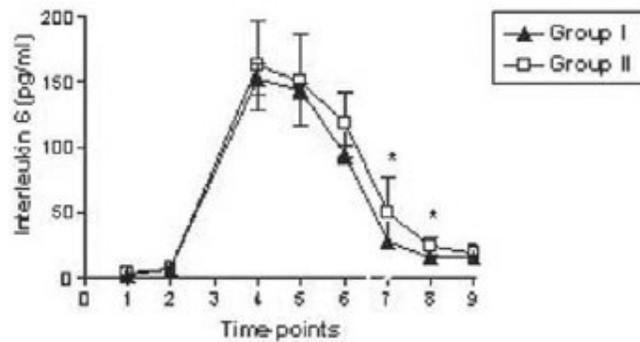


Fig. 4 - Interleukin 6 values over time. Group 1 - no ultrafiltration; Group II - with ultrafiltration. \* statistically significant

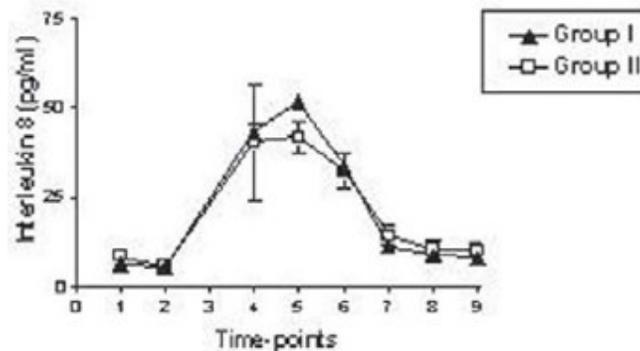


Fig.5 - Interleukin 8 values over time. Group 1 - no ultrafiltration; Group II - with ultrafiltration.

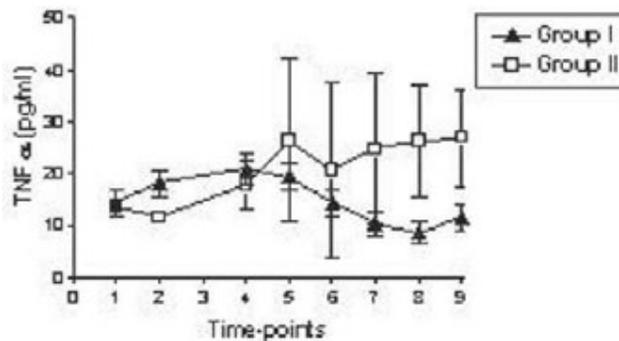


Fig. 6 - TNF-α values over time. Group 1 - no ultrafiltration; Group II - with ultrafiltration.

**C3a over time:** Baseline values did not differ significantly between the two groups. Values were slightly decreased prior to extracorporeal circulation (ECC), remained stable during ECC, and were lowest after ECC. At T5, T6 and T7 (6, 12 and 24 hours after ECC respectively), C3a values were significantly higher in the group without ultrafiltration than in the group with ultrafiltration.

**C4a values over time:** Baseline values did not differ significantly between the two groups. At T5 and T6 (6 and 12 hours following the end of ECC, respectively), C4a values were significantly higher in the group without ultrafiltration than in the group with ultrafiltration. C4a values did not differ between the two groups at any other time-points.

**Interleukin 1-β values over time:** Interleukin-1-β levels did not vary significantly before or after extracorporeal circulation (ECC). The group without ultrafiltration had slightly higher values than the group with ultrafiltration, but the difference was not statistically significant.

**Interleukin 6 values over time:** Baseline values did not differ between the two groups. At T4 (30 minutes following extracorporeal circulation [ECC]), interleukin-6 increased markedly with respect to baseline but did not differ between the two groups. The levels gradually decreased, and at T7 and T8 (24 and 36 hours after ECC respectively) the group with ultrafiltration had significantly higher values than the group without ultrafiltration.

**Interleukin 8 values over time:** At baseline the IL-8 levels did not differ, but increased markedly in both groups at T4, after extracorporeal circulation (ECC). Note the gradual decrease in levels after T5 (6 hours after ECC). IL-8 levels did not differ significantly between the two groups.

**TNF-α values over time:** At baseline TNF-α levels did not differ- significantly between the two groups.

Starting at T5 (6 hrs after extracorporeal circulation), TNF- $\alpha$  increased in the group with ultrafiltration and decreased in the group without ultrafiltration; however, the groups did not have any statistically significant differences.

With respect to the variables analyzed in the ultrafiltered fluid, significant filtration was only achieved in the case of TNF- $\alpha$  ( $34.540 \pm 21.840$  pg/mL). This value was higher in the ultrafiltrate collected at T3 than in the serum collected at T1 in both groups. No statistically significant difference was found in the SOFA scores at T1, T6 and T9 (Table 2).

**Table 2. SOFA score in the two groups.**

Time	T1	T6	T9
Group I	$0.525 \pm 0.289$	$1.220 \pm 0.095$	$1.050 \pm 0.352$
Group II	$0.600 \pm 0.250$	$1.210 \pm 0.196$	$1.260 \pm 0.193$
p-value	0.8926	0.9893	0.8208

*Group I - no ultrafiltration, Group II - with ultrafiltration*

## DISCUSSION

Ultrafiltration has been used frequently in ECC, principally in patients with compromised renal and/or cardiac function in whom volemic control is difficult. The use of ultrafiltration in these cases is highly effective, improving the hydro-electrolytic balance, reducing swelling and balancing hemodynamics. It has been used principally in pediatric surgery in low-weight children undergoing ECC, when the volume of priming is generally greater than the body volume. Ungerleider [8] reported that modified ultrafiltration in pediatric ECC reduces total body fluid and serum levels of inflammatory mediators, resulting in elevation of hematocrit without transfusion and an improvement in pulmonary compliance in the immediate postoperative period.

The technique of ultrafiltration has been shown to be effective in improving postoperative hemodynamics [8-10] and restoring myocardial [1], cerebral [11], respiratory [4] and hemostatic [9] function following pediatric cardiac surgery. These benefits are principally attributed to the capacity of ultrafiltration to remove excess free-water from plasma [9].

There are controversies regarding the efficacy of ultrafiltration in removing inflammatory mediators (cytokines and complements) and improving the inflammatory response triggered by ECC [1] and postoperative morbidity in neonates and children [9]. The conflicting results from the various studies in the literature [3,12] are partially explained by the different methods of ultrafiltration and the different types of filters with various physical and functional properties. In this study, we chose a synthetic membrane filter capable of supporting high flow rates, with a porosity that allows the passage of particles of up to 30 kDa. Nevertheless, the transport of inflammatory mediators by convection does not depend exclusively on their molecular weight. Other physical factors interfere with the passage of these solutes, making efficacy based only on molecular size unpredictable. Other variables that interfere with transport are: spacial conformation of the molecule, electrical charge, hydrophilia and hydrophobia, ligation to acute phase reactive proteins, and ligation to receptors [13,14]. Current evidence suggests that the most promising option for cytokine clearance is through the mechanism of adsorption in certain types of membrane (polyacrylonitrile, polymethylmethacrylate) during ultrafiltration, along with convective transport of other molecules that have not been detected in ultrafiltration [9]. Tetta et al. [9] suggest that some polymer derived membranes behave as sponge layer, therefore, during the convection, the force at the interior of the membrane expands its pores and the area exposed for adsorption of bigger molecules increases. We chose polyacrylonitrile filter because of its largest available pores (30 kD x 20 kD polysulfone filter) which allowed us to study the molecules in question. We didn't think of internal washing of the hemofilter for detection of the cytokines retained by adsorption during the elaboration of the study. That procedure could help us understand better the filtering process that took place.

The diversity of the studied population was one of the reasons for difficulties in comparing the obtained data. In this study, comparing gender, age, body surface, surgical risk score (Euroscore),

CEC time, aortic clamping time, myocardial ischemic time and number of coronary artery grafts received, there were no differences between the two groups, as shown in Table 1.

The IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  stimulate the systemic liberation of IL-6 e IL-8, increasing, in this way, the inflammatory response [15]. The IL-8 is a protein of low molecular weight, belongs to a family of cytokines. It is a potent quimiotaxic agent and activator of neutrofiles, capable of increasing the inflammatory response through induction of liberation for free radicals and proteolytic enzymes.

Circulating levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-8 are not present in normal healthy subjects [16]. Tumoral necrosis factor alpha and IL-8 were present in pre-operatory period (T1) in plasma of most of the subjects in our research. The TNF- $\alpha$  has been detected previously in circulation of patients with chronic heart failure, and we suggest that this finding reflect the severity of the cases.

IL-6 is the key mediator in the acute phase response to tissue injury or infection, inducing hepatic synthesis of acute-phase proteins [17]. Elevated plasma levels of IL-6 occur following both cardiac surgery with ECC [18] and non-cardiac surgery [19]. In the present study IL-6 release was high in both patient groups (with and without ultrafiltration), peaking 30 minutes after termination of ECC. Higher measurements were found in the ultrafiltration group at all time-points; however, the difference was statistically significant only at 24 and 36 hours following the end of ECC. This implies a greater acute phase response and suggests a greater degree of tissue damage with the use of ultrafiltration.

The role of neutrophil activation in lung and myocardial injury following ECC has been well-documented [20]. This led us to measure IL-8, a potent neutrophil chemotactic and activating factor [21]. Unlike IL-6, there was no statistically significant difference between the group with ultrafiltration and the group without ultrafiltration. A possible interpretation for this disparity in the release of these two cytokines is that IL-8 release occurs principally in situations of ischemic-reperfusion injury [22], whereas IL-6 release reflects organ response to any kind of acute insult.

Brasil et al [23] studied patients who underwent myocardial revascularization with or without the use of ECC, and detected the presence of TNF- $\alpha$  only in the group in which ECC was used. In our study TNF- $\alpha$  had a different pattern than that of other interleukins. In the group in which ultrafiltration was not carried out, TNF- $\alpha$  levels were relatively consistent over time. The levels of TNF- $\alpha$  increased slightly, but insignificantly, following ECC, and later decreased to slightly below the levels found in the collected 12 hours after the end of ECC. In the group in which ultrafiltration was carried out, there was a gradual but statistically insignificant increase at all time-points and measurements remained high for up to 36 hours following ECC. When we analyzed the ultrafiltered fluid, we observed significant filtration of only TNF- $\alpha$  ( $34.540 \pm 21.840$  pg/mL), this value being higher than that in the first serum sample (T1) in both groups (Group I,  $14.42 \pm 12.16$  pg/mL and Group II  $13.59 \pm 1.98$  pg/mL). However, serum levels of TNF- $\alpha$  were not significantly different between the two groups. These findings suggest that although a great quantity of this mediator was filtered by the ultrafiltrator membrane, this procedure seems to have a simultaneous stimulating effect on the production of this cytokine.

Activation of the complement cascade occurs during ECC, predominantly by the alternative route [17]. The longer the duration of ECC, the greater the activation of this system, as expressed by the plasma concentration of C3, C3a and C4 [24]. Additional activation of the complement cascade by the heparin-protamine complex led to an increase in the levels of C3a and C4a following protamine infusion. Contrary to findings in the literature, in the present study C3a and C4a concentrations were lower than control values. C3a levels were significantly different between the two groups at 6, 12 and 24 hours after ECC, and C4a levels were significantly different at 6 and 12 hours after ECC, with higher values in the group without ultrafiltration.

Patients who develop SIRS after ECC suffer changes in organ function and in 1-2% of all cases this is related to multiple organ dysfunction syndrome [3]. No statistically significant differences were found in the SOFA scores between groups.

The SOFA score was used because it is currently considered one of the best methods for monitoring organ dysfunction, since it monitors and grades the function of 6 systems (with points ranging from 1 to 4 in accordance with the degree of dysfunction) rather than signs and symptoms. In this way the SOFA score differs from the APACHE score.

In this work all patients have received 30 mg/kg of methylprednisolone, it is standard to perform bypass at our institution. The corticosteroid administration has been effective action on minimize systemic inflammatory response during and after bypass [25,26].

In the late 1970s and early 1980s, some papers has showed better outcome with methylprednisolone administration in low cardiac output syndrome after bypass with cardiac index increase, coronary blood flow improvement, and lower periphery vascular resistance [27,28]. Fey et al. [29] have showed protective effect by corticosteroid administration with less myocardium depression after ischemia and reperfusion. The corticosteroids have properties on lysosomal stabilization membrane, as consequence less cellular death and improve on viable myocardial cells.

Fosse et al. [30] have showed effects on leukocyte periphery blood, less leucocytes in broncoalveolar washed, improvement on pulmonary function, in patients underwent cardiac surgery with bypass and methylprednisolone administration.

Brasil et al. [31] have showed similar results with corticosteroid administration with less proinflammatory cytokines release in patients underwent bypass. The TNF $\alpha$  has evident release decrease and less adverse systemic effects resulting from inflammatory response after bypass. We believe that corticosteroid administration and short period times of bypass and aortic cross clamp could interfere in cytokine expression. The TNF $\alpha$ , IL-6, IL-8, protein C has diminished release, and IL-10 (anti-inflammatory cytokine) have improvement with corticosteroid administration. The corticosteroid administration has been showed better cardiac index and diminished troponin T release in the postoperative time [32-34].

Although these evidences, there is not consensus about corticosteroid administration and its effect on systemic inflammatory response. The patients underwent bypass and corticosteroid administration still have inflammatory response.

Our aim in this work was showed the additional effects of ultrafiltration in patients underwent to cardiac surgeries with bypass, even with corticosteroid administration.

Short extracorporeal circulation time and aortic clipping time could contribute to diminish cytokines expression. De Vriese et al. [35] showed that venovenous continue hemoconcentration using polyacrylonitrile filter method is the most efficient for withdrawal of inflammatory mediators in septic patients, when compared to other filtering techniques.

The present study is limited by the low number of patients and it may be interesting to perform one another study with more patients. The levels of various substances were analyzed by a point-to-point comparison, rather than a comparison of the area under the curve. The point-to-point comparison offers the advantage of identifying the times at which significant differences are present. Similar studies have routinely used point-to-point comparison and this technique has been shown to be sufficiently precise. Since this is a longitudinal study, there is an add-on effect with respect to the sample size at various time-points. This effect increases the precision of the calculations. The fact that the variances are homogeneous throughout the study also adds greater precision to the calculations. In addition, methodologically similar studies have used sample sizes similar to those used in the present study for the reasons pointed out above.

## CONCLUSION

Ultrafiltration significantly filters TNF- $\alpha$  but ultimately has no effect on serum levels of this cytokine. Ultrafiltration did not remove other mediators of inflammatory response (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, C3a and C4a).

The use of ultrafiltration in our study had no effect on organ dysfunction during the postoperative period and should be used only for volemic control in patients who undergo extracorporeal circulation.

## REFERENCES

1. Westaby S. Organ dysfunction after cardiopulmonary bypass: a systemic inflammatory reaction initiated by the extracorporeal circuit. *Intensive Care Med.* 1987;13(2):89-95. [\[MedLine\]](#)
2. Edmunds LH Jr. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1998;66(5 Suppl):S12-6.
3. Royston D. The inflammatory response and extracorporeal circulation. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 1997;11(3):341-54. [\[MedLine\]](#)
4. Moat NE, Shore DF, Evans TW. Organ dysfunction and cardiopulmonary bypass: the role of complement and complement regulatory proteins. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1993;7(11):563-73. [\[MedLine\]](#)
5. Frerking B, Philip I, Dehoux M, Rolland C, Langlois JM, Desmots JM. Circulating cytokines in patients undergoing normothermic cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994;108(4):636-41. [\[MedLine\]](#)
6. Nashef SA, Roques F, Hammill BG, Peterson ED, Michel P, Grover FL, et al. Validation of European System for Cardiac Operative Risk Evaluation (EuroSCORE) in North American cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2002;22(1):101-5. [\[MedLine\]](#)
7. Vincent JL, Mendonça A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine. *Crit Care Med.* 1998;26(11):1793-800. [\[MedLine\]](#)
8. Ungerleider RM. Effects of cardiopulmonary bypass and use of modified ultrafiltration. *Ann Thorac Surg.* 1998;65( 6 Suppl):S35-8.
9. Tetta C, D'Intini V, Bellomo R, Bonello M, Bordoni V, Ricci Z, et al. Extracorporeal treatments in sepsis: are there new perspectives? *Clin Nephrol.* 2003;60(5):299-304. [\[MedLine\]](#)
10. Biglioli P, Cannata A, Alamanni F, Naliato M, Porqueddu M, Zanobini M, et al. Biological effects of off-pump vs. on-pump coronary artery surgery: focus on inflammation, hemostasis and oxidative stress. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2003;24(2):260-9. [\[MedLine\]](#)
11. Wang MJ, Chiu IS, Hsu CM, Wang CM, Lin PL, Chang CI, et al. Efficacy of ultrafiltration in removing inflammatory mediators in pediatric cardiac operations. *Ann Thorac Surg.* 1996;61(2):651-6. [\[MedLine\]](#)
12. Wan S, Yim AP, Arifi AA, Lee TW, Huynh CH, DeSmet JM, et al. Can cardioplegia management influence cytokine responses during clinical cardiopulmonary bypass? *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 1999;5(2):81-5. [\[MedLine\]](#)
13. Brunet S, Leblanc M, Geadah D, Parent D, Courteau S, Cardinal J. Diffusive and convective solute clearances during continuous renal replacement therapy at various dialysate and ultrafiltration flow rates. *Am J Kidney Dis.* 1999;34(3):486-92. [\[MedLine\]](#)
14. Venkataraman R, Subramanian S, Kellum JA. Clinical review: extracorporeal blood purification in severe sepsis. *Crit Care.* 2003;7(2):139-45. [\[MedLine\]](#)
15. Dinarello CA. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. *Chest.* 1997;112(6 Suppl):321S-9S.
16. Janovich HB. *The cytokine handbook.* London:Academic Press;1991. p.5.
17. Butler J, Rocker GM, Westaby S. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1993;55(2):552-9. [\[MedLine\]](#)
18. Butler J, Chong GL, Baigrie RJ, Pillai R, Westaby S, Rocker GM. Cytokine responses to cardiopulmonary bypass with membrane and bubble oxygenation. *Ann Thorac Surg.* 1992;53(5):833-

8. [\[MedLine\]](#)
19. Ohzato H, Yoshizaki K, Nishimoto N, Ogata A, Tagoh H, Monden M, et al. Interleukin-6 as a new indicator of inflammatory status: detection of serum levels of interleukin-6 and C-reactive protein after surgery. *Surgery*. 1992;111(2):201-9. [\[MedLine\]](#)
20. Royston D, Fleming JS, Desai JB, Westaby S, Taylor KM. Increased production of peroxidation products associated with cardiac operations: evidence for free radical generation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1986;91(5):759-66. [\[MedLine\]](#)
21. Finn A, Naik S, Klein N, Levinsky RJ, Strobel S, Elliott M. Interleukin-8 release and neutrophil degranulation after pediatric cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1993;105(2):234-41. [\[MedLine\]](#)
22. George JF. Invited letter concerning: cytokines and mechanisms of capillary leakage after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1993;106(3):566-7. [\[MedLine\]](#)
23. Brasil LA, Gomes WJ, Salomão R, Buffolo E. Inflammatory response after myocardial revascularization with or without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 1998;66(1):56-9. [\[MedLine\]](#)
24. Chenoweth DE, Cooper SW, Hugli TE, Stewart RW, Blackstone EH, Kirklin JW. Complement activation during cardiopulmonary bypass: evidence for generation of C3a and C5a anaphylatoxins. *N Engl J Med*. 1981;304(9):497-503. [\[MedLine\]](#)
25. Hill GE, Alonso A, Thiele GM, Robbins RA. Glucocorticoids blunt neutrophil CD11b surface glycoprotein upregulation during cardiopulmonary bypass in humans. *Anesth Analg*. 1994;79(1):23-7. [\[MedLine\]](#)
26. Inaba H, Kochi A, Yorozu S. Suppression by methylprednisolone of augmented plasma endotoxin-like activity and interleukin-6 during cardiopulmonary bypass. *Br J Anaesth*. 1994;72(3):348-50. [\[MedLine\]](#)
27. Dietzman RH, Casteda AR, Lillehei CW, Ersera, Motsay GJ, Lillehei RC. Corticosteroids as effective vasodilators in the treatment of low output syndrome. *Chest*. 1970;57(5):440-53. [\[MedLine\]](#)
28. Niazi Z, Flodin P, Joyce L, Smith J, Mauer H, Lillehei RC. Effects of glucocorticosteroids in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Chest*. 1979;76(3):262-8. [\[MedLine\]](#)
29. Fey K, Follette D, Livesay J, Nelson R, Bugyi H, DeLand, et al. Effects of membrane stabilization on the safety of hypothermic arrest after aortic cross-clamping. *Circulation*. 1977;56(3 Suppl):II143-7. [\[MedLine\]](#)
30. Fosse E, Mollnes TE, Ingvaldsen B. Complement activation during major operations with or without cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1987;93(6):860-6. [\[MedLine\]](#)
31. Brasil LA, Gomes WJ, Salomão R, Fonseca JHP, Branco JNR, E Buffolo. Uso de corticóide como inibidor da resposta inflamatória sistêmica induzida pela circulação extracorpórea. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 1999;14(3):254-68.
32. Jansen NJ, van Oeveren W, van den Broek L, Oudemans-van Straaten HM, Stoutenbeek CP, Joen MC, et al. Inhibition by dexamethasone of the reperfusion phenomena in cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1991;102(4):515-25. [\[MedLine\]](#)
33. Liakopoulos OJ, Teucher N, Mühlfeld C, Middel P, Heusch G, Schoendube FA, et al. Prevention of TNFalpha-associated myocardial dysfunction resulting from cardiopulmonary bypass and cardioplegic arrest by glucocorticoid treatment. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2006;30(2):263-70. [\[MedLine\]](#)
34. Liakopoulos OJ, Schmitto JD, Kazmaier S, Bräuer A, Quintel M, Schoendube FA, et al. Cardiopulmonary and systemic effects of methylprednisolone in patients undergoing cardiac surgery.

Ann Thorac Surg. 2007;84(1):110-8.

35. De Vriese AS, Colardyn FA, Philippé JJ, Vanholder RC, De Sutter JH, Lameire NH. Cytokine removal during continuous hemofiltration in septic patients. J Am Soc Nephrol. 1999;10(4):846-53. [\[MedLine\]](#)

1. Mestrado; Enfermeiro-Perfusionista da Disciplina de Cirurgia Cardíaca do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.
2. Professora Doutora do Departamento de Cirurgia - Disciplina de Fisiologia e Metabologia Cirúrgica - Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.
3. Professor Doutor do Departamento de Cirurgia - Disciplina de Cirurgia Cardíaca - Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.
4. Mestrado; Cirurgião Cardíaco da Disciplina de Cirurgia Cardíaca do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.
5. Mestrado; Fisioterapeuta da Unidade de Terapia Intensiva do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.
6. Professora Adjunta do Departamento de Patologia Clínica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.
7. Professor Doutor da Disciplina de Cirurgia Cardíaca do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.
8. Professor Adjunto da Disciplina de Cirurgia Cardíaca do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.

Work done at Cardiac Surgery Unit, Department of Surgery, School of Medical Sciences, State University of Campinas (UNICAMP), SP, Brasil.

Suport: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP

Correspondence address:

Nilson Antunes  
Rua Alexander Fleming, 181  
Cidade Universitária "Zeferino Vaz"  
Campinas, SP, Brasil. CEP 13083-970  
E-mail: cirurgia@fcm.unicamp.br

Artigo recebido em 26 de dezembro de 2007

Artigo aprovado em 31 de março de 2008

# ***4 DISCUSSÃO GERAL***

A síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SIRS) teve sua conceituação consensual em agosto de 1991 nos Estados Unidos da América, durante o congresso da *Society of Critical Care Medicine and American College of Chest Physicians* realizado em Chicago, sendo determinada como “estado inflamatório sistêmico” devido à resposta orgânica imuno-endócrino-metabólica secundária a uma variedade de graves agressões orgânicas, que têm como característica principal a ativação de todos os mediadores do processo inflamatório, criando o que podemos chamar de estado auto-inflamatório. Com a conceituação da SIRS, ficou também melhor definido o conceito de sepsis, como um ponto de interseção entre o estado infeccioso e o estado inflamatório (89).

A resposta inflamatória sistêmica que ocorre em graus variados em todos os pacientes submetidos à CEC permanece como a maior causa de morbidade e mortalidade em cirurgia cardíaca, principalmente em crianças. Contudo, a partir da verificação de que a resposta inflamatória está presente também em pacientes operados sem CEC, o foco mudou para o conceito de que, mais do que o contato com o circuito de CEC, o contato do sangue com a ferida operatória seria o maior responsável pelo fenômeno da inflamação em CEC(90,91). Isso, inclusive, levou à consideração do contato do sangue com serosas (pleura e pericárdio), que possuem, sabidamente, atividade fibrinolítica, como causa de sangramento aumentado. Assim, a manutenção da integridade pleural na dissecação das artérias torácicas internas passou a ser um detalhe interessante de técnica cirúrgica. Verificamos que a resposta inflamatória em operação cardíaca é multifatorial e isto, com certeza, é fator importante nas divergências de resultados obtidos nos trabalhos de pesquisa realizados.

A opção pela randomização, deveu-se a estrutura deste trabalho, onde comparamos variáveis obtidas entre dois grupos de pacientes, o que só foi possível pela segurança que existe no método de ultrafiltração convencional durante a CEC e por não aumentar o risco daqueles submetidos a ela.

A eficácia da randomização em nosso estudo fica definida pela homogeneidade das características basais entre os dois grupos, caracterizadas

pelas variáveis: sexo ( $p = 0,704$ ), idade ( $p = 0,848$ ), superfície corpórea ( $p = 0,166$ ), EuroSCORE ( $p = 0,586$ ), duração da CEC ( $p = 0,674$ ), tempo de clampeamento da aorta ( $p = 0,333$ ), tempo de isquemia miocárdica ( $p = 0,431$ ), número de enxertos coronarianos ( $p = 0,756$ ).

Contudo, a escolha da doença coronariana, que dentre as patologias cardíacas é a que apresenta uma maior uniformidade, podem ter influenciado o resultado obtido do estudo, por não incluir pacientes potencialmente mais graves. Em sua tese de doutoramento defendida em 2001, Oliveira (92) também optou pelo estudo de pacientes coronarianos submetidos à revascularização do miocárdio com uso de CEC, tendo um grupo controle com 20 pacientes que não receberam ultrafiltração e um grupo de 24 pacientes que receberam ultrafiltração venovenosa modificada.

A titulação de mediadores inflamatórios presentes na circulação sanguínea de indivíduos submetidos à operação para revascularização do miocárdio com uso de CEC, utilizando-se ou não a ultrafiltração, por si só não traria importante informação a cerca do papel destes mediadores no comprometimento na função de diferentes sistemas orgânicos. Por isso optamos por avaliar a função orgânica utilizando o escore SOFA, bastante difundido nos trabalhos realizados em unidades de terapia intensiva (88,93,94). Contudo, o escore SOFA avalia a disfunção orgânica e, em nosso estudo não obtivemos diferença entre os grupos com significância estatística, possivelmente devido a uma apresentação de SIRS que não comprometeu a função orgânica. Como verificamos na literatura 1 a 2 % dos casos evoluem para disfunção de múltiplos órgãos (95), e a nossa casuística não identificou alterações a esse nível.

A remoção convectiva de solutos depende da pressão transmembrana, do peso molecular e estrutura do soluto, sendo que para o filtro de poliacrilonitrila o ponto de corte para moléculas é de 30 kDa. Das citocinas estudadas o TNF $\alpha$  está presente na circulação como um mediador biológico ativo que apresenta um peso molecular de 54 kDa, junto com o um monômero não ativo de 17 kDa. O TNF $\alpha$  detectado no ultrafiltrado por imunoensaio é provavelmente em grande escala o monômero, pois só esta forma pode passar

o tamanho de poro médio da membrana do hemofiltro. O peso molecular da IL-1 $\beta$  é de 17 kDa, da IL-6 é de 26 kDa e da IL-8 é de 8 kDa. Teoricamente estas moléculas podem passar pela membrana do hemoconcentrador. Contudo, as evidências atuais apontam que a melhor possibilidade de depuração de citocinas ocorre por mecanismo de adsorção em alguns tipos de membranas (poliacrilonitrila, polimetilmetacrilato) durante a hemofiltração, ao lado de transporte convectivo de outras moléculas. Tetta *et al.* (96) sugerem que algumas membranas derivadas de polímeros comportam-se como camadas de esponja, sendo que, durante o processo de convecção, a força imposta no interior da membrana expande seus poros e aumenta a área exposta para a adsorção de moléculas maiores. Quando optamos pelo uso de filtro de poliacrilonitrila, o fizemos por ter um filtro de maior poro possível (30 kDa contra 20 kDa do filtro de polissulfona), com possibilidade de filtrar as moléculas em estudo. Muitos dos estudos que definem a polissulfona como melhor para filtração são posteriores ao início deste trabalho. Optamos também pela dosagem sérica das citocinas e da amostra colhida do total filtrado após o procedimento. Não foi realizado lavagem da membrana do hemofiltro para dosagem dos mediadores retidos por adsorção. Acreditamos que a retirada de mediadores por adsorção ou por convecção diminuiria o montante no grupo filtrado, podendo apresentar diferença estatisticamente significativa com o grupo que não recebeu hemofiltração. Não pensamos em adicionar esta possibilidade (lavagem do filtro) quando da elaboração do projeto de pesquisa.

A ministração de metilprednisolona pode alterar a liberação de complemento e isto alterar sua titulação, bem como das citocinas, principalmente o TNF $\alpha$ . O uso de metilprednisolona na dose de 30 mg/kg faz parte do protocolo do serviço para operações com uso de CEC. Acreditamos que o não uso seria uma atitude prejudicial para os pacientes do estudo. A ultrafiltração para remoção de mediadores da resposta inflamatória é uma possibilidade a mais nas estratégias de minimizar esta resposta orgânica. Sabemos que mesmo com o uso desta medicação, a resposta ainda é exuberante. Em metanálise de estudos randomizados, avaliando os benefícios clínicos do uso de esteróides em pacientes submetidos à CEC, Whitlock *et al* (97) verificaram que a literatura disponível ainda é insuficiente para fazer

afirmações conclusivas sobre as questões de segurança importantes a respeito do uso de esteróides em torno de CEC. No entanto, nenhuma tendência existe dentro de dados para levantar as principais preocupações. Em segundo lugar, o tipo ideal de esteróide, dose e frequência não estão bem estabelecidos. Em outro estudo de metanálise publicado em 2009, Ho e Tan (98) analisaram os benefícios e riscos do uso da profilaxia com corticóide em pacientes adultos e concluíram que as evidências atuais sugerem que doses baixas de corticosteróides é tão eficaz quanto altas doses de corticóide na redução do risco de fibrilação atrial, mas com menos efeitos colaterais em cirurgia cardíaca de adultos. São necessários grandes ensaios clínicos controlados para confirmar a relação custo-benefício da profilaxia com baixa dose de corticóide em cirurgia cardíaca de adultos.

Na cirurgia cardíaca pediátrica com circulação extracorpórea o uso de sangue ou de seus derivados se faz necessário na grande maioria dos casos, principalmente na formação do *priming* pois, devido ao volume de preenchimento do circuito ser normalmente próximo ou superior ao volume sangüíneo corporal da criança, isto é necessário para obter um hematócrito em torno de 25%. Sabemos que existe um acréscimo de mediadores inflamatórios presentes neste sangue estocado, o que, por si só, já aumenta o total circulante destes, contribuindo para uma maior estimulação do processo inflamatório. Apesar do uso de sangue no *priming*, os trabalhos realizados focando a resposta inflamatória em crianças utilizando a UF têm demonstrado resultados melhores que os obtidos em adultos.

Em nosso estudo, houve necessidade de utilização de transfusão no centro cirúrgico em 11 pacientes do total de 20 do grupo que não recebeu ultrafiltração, com uma média de concentrado de hemáceas (CH) de 1,36 unidades e 1,09 unidades de plasma fresco congelado (PFC) por cada paciente que recebeu transfusão. No grupo com ultrafiltração, 6 pacientes de 20 receberam transfusão, sendo 1,16 unidades de CH e 2,16 unidades de PFC para cada paciente que foi transfundido. As transfusões realizadas no centro cirúrgico se dão ou por sangramento ou por hemoglobina inferior a 10 %, resultante de hemodiluição ou anemia prévia. Com estes dados podemos verificar que no grupo que recebeu ultrafiltração houve menor necessidade de

hemotransfusão. Avaliando a transfusão sangüínea na UTI, verificamos que no grupo que não recebeu ultrafiltração, apenas 4 pacientes de 20 necessitaram ser transfundidos, sendo 1,25 unidades de CH e 2,5 unidades de PFC para cada paciente transfundido. Já no grupo ultrafiltrado, 8 pacientes de 20 necessitaram de transfusão sangüínea, sendo 2 unidades de CH e 2,25 unidades de PFC para cada paciente transfundido. Em nenhum momento, seja no centro cirúrgico ou na UTI, houve necessidade de transfusão de plaquetas ou de outro fator de coagulação específico. Notamos que inversamente ao que ocorreu no centro cirúrgico, o grupo com ultrafiltração foi o que demandou maior necessidade de hemotransfusão na UTI.

# ***5 CONCLUSÕES***

1. O tipo de filtro usado neste estudo removeu somente fator de necrose tumoral alfa, porém sem influência no nível sérico deste mediador. Foram removidos interleucina 6 e complemento C3a e C4a em escala menor Não houve filtração das citocinas IL-1 $\beta$  e IL-8.
2. A Ultrafiltração durante a CEC, no modelo adotado, não teve influência na disfunção orgânica no período pós-operatório.

# ***6 REFERÊNCIAS***

1. Braile DM, de Godoy MF. História da cirurgia cardíaca. *Arq Bras Cardiol.* 1996; 66: 329-37.
2. Kirklin JK, George JF, Holman W. The inflammatory response to cardiopulmonary bypass. In: Gravile G, Davis RF, Utley JR, (eds.) *Cardiopulmonary bypass: principles and practice.* Baltimore: Williams & Wilkins. 1993:233-48.
3. Westaby S. Organ dysfunction after cardiopulmonary bypass: a systemic inflammatory reaction by the extracorporeal circuit. *Intensive Care Med.* 1987;13: 89-95.
4. Boyle JR, Pohlman TH, Cornejo CJ, Verrier ED. Ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg.* 1996; 64:S24-30.
5. Butler J, Rocher GM, Westaby S. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1993; 55:552-9.
6. Lowry SF. Cytokines mediators of immunity and inflammation. *Arch Surg.* 1993; 128:1235-41.
7. Cremer J, Martin M, Redl H, Bahrami S, Abraham C, Graeter T et al. Systemic inflammatory response syndrome after cardiac operations. *Ann Thorac Surg.* 1996; 61:1714-20.
8. Nathan C, Sporn M. Cytokines in context. *J Cell Biol.* 1991;113:981-6.
9. Roitt I, Brostoff J, Male D. *Immunology.* 4<sup>th</sup> ed. London: Mosby, 1996:420p.
10. Boyle EM, Pohlman TH, Johnson MC, Verrier ED. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the systemic inflammatory reaction. *Ann Thorac Surg.* 1997; 63:277-84.
11. Fahey TJ III, Tracey KJ. Cytokines, tumoral necrosis factor and other mediators of sepsis. In: Carlson RW, Geheb MA, (eds.) *Principles & practice of medical intensive care.* Philadelphia: WB Saunders, 1993:311-23.
12. Moat NE, Shore DF, Evans TW. Organ dysfunction and cardiopulmonary bypass: the role of complement and complement regulatory proteins. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1993;7:563-73.
13. Frering B, Philip I, Dehoux M, Rolland C, Langlois JM, Desmonts JM. Circulating cytokines in patients undergoing normothermic cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994;108:636-41.

14. Hozheimer RG, Molloy RG, Gorlach H, Wilkert S, Hehrlein F. IL6 and TNF- $\alpha$  release in association with neutrophil activation after cardiopulmonary bypass surgery. *Infection* 1994;22:37-42.
15. Hennein HA, Ebba H, Rodriguez JL, Merrick SH, Keith FM, Bronstein MH et al. Relationship of the proinflammatory cytokines to myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994;108:626-35.
16. Brasil LA, Gomes WJ, Salomão R, Buffolo E. Inflammatory response after myocardial revascularization with or without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1998;66:56-59
17. Austen KF, Becker EL, Borsos T. Nomenclature of complement. *Bull World Health Organ.* 1968;39(6):935-8.
18. Asimakopoulos G, Smith PLC, Ratnatunga CP, Taylor KM. Lung injury and acute respiratory distress syndrome after cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1999; 68:1107-15.
19. Müller-eberhard HJ. Chemistry and reaction mechanisms of complement. *Adv Immunol.* 1968;8:1-80.
20. Tsuji RF, Geba GP, Wang Y, Kawamoto K, MatisLA, Askenase PW. Required early complement activation in contact sensitivity with generation of local C5-dependent chemotactic activity, and late T cell interferon  $\gamma$ : a possible initiating role of B cells. *J Exp Med.* 1997;186:1015-26.
21. Buongiorno E, Cossa L, Polo MG, De Iaco MR, De Nuzzo A, D'Ippolito V et al. La plasmaferesi nei centri dialisi. In: ANTE, IX Corso Nazionale di Aggiornamento Tecnici Emodialisi Conversano (Bari), 15-18, maggio, 2001. Disponível em <http://www.ante.it/atti/Corso2001/Buongiorno/Buongiorno2001.html>.
22. Gigli I, Austen KF. Fluid phase destruction of C2<sup>hu</sup>, by C1<sup>hu</sup>. II. Unmasking by C4i<sup>hu</sup> of C1<sup>hu</sup> specificity for C2<sup>hu</sup>. *J Exp Med.* 1969;130:833-46.
23. Shimamoto A, Kanemitsu S, Fujinaga K, Takao M, Onoda K, Shimono T, et al. Biocompatibility of silicone-coated oxygenator in cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 2000;69:115-20.
24. Henson PM. Secretion of lysosomal enzymes induced by immune complexes and complement. *Front Biol.* 1976;45:99-126.

25. Mayer MM. Mechanism of haemolysis by complement. In: Wolstenholme GEW, Knight J, (ed.). Complement. London: J and A Churchill; 1965:4-32.
26. Ruddy S, Gigli I, Austen KF. The complement system of man (first or four parts). *N Eng J Med.* 1972;287:489-95.
27. Sims PJ. Permeability characteristics of complement-damaged membranes: evaluation of the membrane leak generated by the complement proteins C5b-9. *Proc Natl Acad Sci.* 1981;78:1838-42.
28. Kumar AG, Ballantyne CM, Michael LH, Kukielka GL, Youker KA, Lindsey ML, et al. Induction of monocyte chemoattractant protein-1 in the small veins of the ischemic and reperfused canine myocardium. *Circulation.* 1997;95:693-700.
29. de Lemos JA, Morrow DA, Blazing MA, Jarolim P, Wiviott SD, Sabatine MS, et al. Serial measurement of monocyte chemoattractant protein-1 after acute coronary syndromes: results from the A to Z trial. *J Am Coll Cardiol.* 2007;50:2117-24.
30. Verrier ED, Boyle EM. Endothelial Cell Injury in Cardiovascular. *Ann Thorac Surg.* 1996;62:915-22.
31. Frering B, Philip I, Dehoux M, Rolland C, Langlois JM, Desmonts JM. Circulating cytokines in patients undergoing normothermic cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994;108:636-41.
32. Hauser GJ, Bem-Ari J, Colvin MP, Dalton HJ, Hertzog JH, Bearb M et al. Interleukin-6 levels in serum and lung lavage fluid of children undergoing open heart surgery correlate with postoperative morbidity. *Intensive Care Med.* 1998; 24(5):481-6.
33. de Lemos JA, Morrow DA, Sabatine MS, Murphy SA, Gibson CM, Antman EM et al. Association between plasma levels of monocyte chemoattractant protein-1 and long-term clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes. *Circulation.* 2003;107:690-5.
34. Casey LC. Role of the cytokines in the pathogenesis of cardiopulmonary-induced multisystem organ failure. *Ann Thorac Surg.* 1993;56:(5 Suppl) S92-6.
35. Chang L, Savige J. Studies to demonstrate inhibition of functional activity of neutrophil lysosomal enzymes with ANCA. *Adv Exp Biol.* 1993;336:97-100.

36. Doherty DE, Downey GP, Schwab B, Elson, E, Worthen GS.  
Lipolysaccharide-induced monocyte retention in the lung. *J Immunol.* 1994;153:241-55.
37. Finn A, Naik S, Klein N, Levinsky RJ, Strobel S, Elliott M. Interleukin-8 release and neutrophil degranulation after pediatric cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1993;105:234-41.
38. Friedman M, Wang SY, Sellke FW, Franklin A, Weintraub RM, Johnson RG. Pulmonary injury after total or partial cardiopulmonary bypass with thromboxane synthesis inhibition. *Ann Thorac Surg.* 1995;59:598-603.
39. Gillinov AM, De Valeria PA, Winkelstein JA, Wilson I, Curtis WE, Shaw D. et al. Complement inhibition with soluble complement receptor type 1 in cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1993;55:619-24.
40. Gillinov AM, Redmond JM, Winkelstein JA, Zehr KJ, Herskowitz A, Baumgartner WA et al. Complement and neutrophil activation during cardiopulmonary bypass: a study in the complement-deficient dog. *Ann Thorac Surg.* 1994;57:345-52.
41. Jahr J, Grande PO. Pulmonary and haemodynamic effects of extracorporeal circulation in the cat and the beneficial effects of prostacyclin. *Intens Care Med* 1992;18:118-22.
42. Pajkrt D, Manten A, VanA Der Poll T, Tiel Van Buul MMC, Jansen J, Cate JW et al. Modulation of cytokine release and neutrophil function by granulocyte colony-stimulating factor during endotoxemia in humans. *Blood* 1997;90:1415-24.
43. Bronicki RA, Backer CL, Baden HP, Mavroudis C, Crawford SE, Green TP. Dexamethasone reduces the inflammatory response to cardiopulmonary bypass in children. *Ann Thorac Surg.* 2000;69:1490-5.
44. Gott JP, Cooper WA, Schimidt FT Jr, Brown III WM, Wight CE, Merlino JD et al. Modifying risk for extracorporeal circulation: trial of four anti-inflammatory strategies. *Ann Thorac Surg.* 1998; 66:747-54.
45. Hayashida N, Tomoeda H, Oda T, Tayama E, Chihara S, Kawara T et al.. Inhibitory effect of milrinone on cytokine production after cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1999;68:1661-7.

46. Jansen NJ, Wvan Oeveren M, Van Vliet CP, Stoutenbeek L, Eysman And Cr Wildevuur. The role of different types of corticosteroids on the inflammatory mediators in cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1991;5:211-7.
47. . Mariano F, Tetta C, Guida G, Triolo G, Camussi G. Hemofiltration reduces the serum priming activity on neutrophil chemiluminescence in septic patients. *Kidney Int.* 2001;60:1598-605.
48. Tassani P, Richter JA, Barankay A, Braun SL, Haehnel C, Spaeth P et al. Does high-dose methylprednisolone in aprotinin-treated patients attenuate the systemic inflammatory response during coronary artery bypass grafting procedures? *J Cardiothorac Vasc Anesthesiol.* 1999;13:165-72.
49. Elliott MJ. Ultrafiltration and modified ultrafiltration in pediatric open heart operations. *Ann Thorac Surg.* 1993;56:1518-22.
50. Grossi EA, Kallenbach K, Chau S, Derivaux C, Aguinaga MG, Steinberg BM et al. Impact of heparin bonding on pediatric cardiopulmonary bypass: a prospective randomized study. *Ann Thorac Surg* 2000;70:191-6.
51. Horton SB, Butt WW, Mullaly RJ, Thuys CA, O'Connor, EB, Byron K, et al. IL6 and IL8 levels after cardiopulmonary bypass are not affected by surface coating. *Ann Thorac Surg.* 1999;68:1751-5.
52. Jansen PG, Te Velthuis H, Huybregts RA, Paulus R, Bulder ER, Van Der Spoel HI, et al. Reduced complement activation and improved postoperative performance after cardiopulmonary bypass with heparin-coated circuits. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1995;110:829-34.
53. Ozawa T, Yoshihara K, Koyama N, Watanabe Y, Shiono N, Takanashi Y. Clinical efficacy of heparin-bonded bypass circuits related to cytokine responses in children. *AnnThorac Surg.* 2000; 69:584-90.
54. Sander A, Armbruster W, Sander B, Daul AE, Lange R, Peters J. Hemofiltration increase IL6 clearance in early systemic inflammatory response syndrome but does not alter IL6 and TNF $\alpha$  plasma concentration. *Intens Med Care.* 1997;23:878-84.
55. Bando K, Pillai R, Cameron DE, Brawn JD, Winkelstein JA, Hutchins GM et al. Leukocyte depletion ameliorates free radical-Mediated lung injury after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1990;99:873-7.

56. Breda MA, Drinkwater DC, Laks H, Bhuta S, Corno AF, Davtyan HG et al. Prevention of reperfusion injury in the neonatal heart with leukocyte-depleted blood. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1989;97:654-65.
57. Gu YJ, De Vries AJ, Boonstra PW, Van Oeveren W. Leukocyte depletion results in improved lung function and reduced inflammatory response after cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1996;112:494-500.
58. Komai H, Yamamoto F, Takana K, Yagihara T, Kawashima Y. Prevention of lung injury during open heart operations for congenital heart defects. *Ann Thorac Surg.* 1994; 57:134-40.
59. Lee JR, Han JJ, Seo JW. Correlation between ICAM-1 and functional recovery of piglet myocardium with leukocyte-depleted reperfusion. *Ann Thorac Surg.* 2000; 70:1531-35.
60. Mihaljevic TM, Tonz LK, Von Segesser M, Pasic P, Grob J, Fehr B et al. The influence of leukocyte filtration during cardiopulmonary bypass on postoperative lung function: a clinical study. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1995;109:1138-45.
61. Hewett JA, Jean PA, Kunkel SL, Roth RA. Relationship between tumor necrosis factor- $\alpha$  and neutrophils in endotoxin-induced liver injury. *Am J Physiol.* 1993; 265:1011-5.
62. Hoffmann JN, Hartl WH, Deppisch R, Faist E, Jochum M, Inthorn D. Effect of hemofiltration on hemodynamics and systemic concentrations of anaphylatoxins and cytokines in human sepsis. *Intens Care Med.* 1996;22:1360-7.
63. Staubach KH, Rau HG, Kooistra A, Schardey HM, Hohlback G, Schildberg FW. Can hemofiltration increase survival time in acute endotoxemia: a porcine shock model. In: *Second Vienna Shock Forum* 1989; 821-6.
64. Buffolo E, Andrade JCS, Branco JNR, Teles CA, Aguiar LF, Gomes WJ. Coronary artery bypass grafting without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1996; 61:63-6.
65. Glenville B, Ross D. Coronary artery surgery with patient's lungs as oxygenator. *Lancet* 1986;2:1005-6.
66. Richter JA, Meisner H, Tassani P, Barankay A, Dietrich W, Braun SL. Drew-Anderson technique attenuates systemic inflammatory response syndrome

- and improves respiratory function after coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg.* 2000;69:77-83.
67. Suzuki T, Fukuda T, Ito T, Inoue Y, Cho Y, Kashima I. Continuous pulmonary perfusion during cardiopulmonary bypass prevents lung injury in infants. *Ann Thorac Surg.* 2000;69:602-6.
68. Veith FJ, Deysine M, Nehlsen SL, Karl RC. Preservation of pulmonary function, hemodynamics, and morphology in isolated perfused canine lungs. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1966;52:437-41.
69. Wan S, Izzat MB, Lee TW, Wan IYP, Tang NLS, Yim APC. Avoiding cardiopulmonary bypass in multivessel CABG reduces cytokine response and myocardial injury. *Ann Thorac Surg.* 1999;68:52-7.
70. Henderson LW, Besarab A, Michaels A, Bluernle LWJR. Blood purification by ultrafiltration and fluid replacement. *Trans Am Soc Artif Int Organs.* 1967;13:216-26.
71. Romagnoli A, Hocker J, Keats A, Milan J. External hemoconcentration after deliberate hemodilution. *Am. Soc Anesthesiol.* 1976:269-70.
72. Kim ST. Characteristics of protein removal in hemodiafiltration. *Contrib Nephrol (Basel).* 1994;108:23-37.
73. Solem JO, Stahl E, Kugelberg J, Steen S. Hemoconcentration by ultrafiltration during open-heart surgery. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg.* 1988; 22:271-4.
74. Andreasson S, Göthberg S, Berggren H, Bengtsson A, Eriksson E, Risberg B. Hemofiltration modifies complement activation after extracorporeal circulation in infants. *Ann Thorac Surg.* 1993;56:1515-7.
75. Hoffmann JN, Hartl WH, Deppisch R, Faist E, Jochum M, Inthorn D. Effect of hemofiltration on hemodynamics and systemic concentrations of anaphylatoxins and cytokines in human sepsis. *Intens Care Med.* 1996;22:1360-7.
76. Walpoth BH, Ampert T, Schmid R, Kipfer B, Lanz M, Spaeth P et al. Hemofiltration during cardiopulmonary bypass: quality assessment of hemoconcentrated blood. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1994;42:162-9..

77. Naik SK, Knight A, Elliott M. A prospective randomized study of a modified technique of ultrafiltration during pediatric openheart surgery. *Circulation* 1991; 84:422-31.
78. Bando K, Turrentine MW; Vijay P, Sharp TG, Sekine Y, Lalone, BJ et al. Effect of modified ultrafiltration in high-risk patients undergoing operations for congenital heart disease. *Ann Thorac Surg.* 1998;66(3):821-7.
79. Ungerleider RM. Effects of cardiopulmonary bypass and use of modified ultrafiltration. *Ann Thorac Surg.* 1998;65( 6 Suppl):S35-8.
80. Wang MJ, Chiu IS, Hsu CM, Wang CM, Lin PL, Chang CI et al. Efficacy of ultrafiltration in removing inflammatory mediators in pediatric cardiac operations. *Ann Thorac Surg.* 1996;61:651-6.
81. Millar AB, Armstrong L, Van Der Linden J, Moat N, Ekroth R, Westwick J et al. Cytokine production and hemofiltration in children undergoing cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1993;56:1499-502.
82. Journois D. Hemofiltration during cardiopulmonary bypass. *Kidney Int Suppl.* 1998; 66: S174-7.
83. Boldt J, Kling DBV, Bormann BV, Scheld HH, Hempelmann G. Extravascular Lung Water and Hemofiltration during Complicated Cardiac Surgery. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1987;35:161-5.
84. KeeEEnan HT, Thiagarajan R, Stephens KE, Williams G, Ramamoorthy C, Lupinetti FM. Pulmonary function after modified venovenous ultrafiltration in infants: a prospective, randomized trial. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2000;119:501-7.
85. Leyh RG, Bartels C, Jubert-Hubner Bechtel JFM, Sievers HH. Influence of modified ultrafiltration on coagulation, fibrinolysis and blood loss in adult cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2001;19:145-51.
86. Nagashima M, Shin'oka T, Nollert G, Shum-Tim D, Rader CM.; Mayer JEJr. High-volume continuous hemofiltration during cardiopulmonary bypass attenuates pulmonary dysfunction in neonatal lambs after deep hypothermic circulatory arrest. *Circulation* 1998;98:378-84.
87. Westaby S, Blackstone EH, Kirklin JW, Chenoweth DE; Pacifico AD. Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1983;86:845-57.

88. Vincent JL, Mendonça A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine. *Crit Care Med.* 1998;26(11):1793-800.
89. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus. Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med.* 1992;20:864-874.
90. Welin L, Vedin J, Vaage J, Lundahl. Activation of complement and leukocyte receptors during on-and off pump coronary artery surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004; 25:35-42.
91. Raja SG. The "dark side" of cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004; 25:906.
92. Oliveira JB. Ultrafiltração venovenosa em pacientes submetidos à revascularização miocárdica com uso de circulação extracorpórea. [Tese-Doutorado]. São Paulo(SP): Universidade de São Paulo; 2001.
93. Pättilä T, Kukkonen S, Vento A, Pettilä V, Suojaranta-Ylinen R. Relation of the Sequential Organ Failure Assessment score to morbidity and mortality after cardiac surgery *Ann Thorac Surg.* 2006;82:2072-2079.
94. Mazzone M, De Maria R, Bortone F, Parolini M, Ceriani R, Solinas C et al. Long-term outcome of survivors of prolonged intensive care treatment after cardiac surgery *Ann Thorac Surg.* 2006;82:2080-2088.
95. Royston D. The inflammatory response and extracorporeal circulation. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 1997;11(3):341-54.
96. Tetta C, D'Intini V, Bellomo R, Bonello M, Bordoni V, Ricci Z, et al. Extracorporeal treatments in sepsis: are there new perspectives? *Clin Nephrol.* 2003; 60(5):299-304.
97. Whitlock RP, Chan S, Devereaux PJ, Sun J, Rubens FD, Thorlund K, et al. Clinical benefit of steroid use in patients undergoing cardiopulmonary bypass: a meta-analysis of randomized trials. *Eur Heart J.* 2008;29:2592–2600.

98. Ho KM e Tan JA. Benefits and risks of corticosteroid prophylaxis in adult cardiac surgery. A dose-response meta-analysis. *Circulation* 2009;119:1853-1866.