

Ativação de citocina (fator de necrose tumoral - α) e resposta clínica induzida pela circulação extracorpórea

Luiz Antônio BRASIL*, Walter José GOMES*, Reinaldo SALOMÃO*, Ênio BUFFOLO*

RBCCV 44205-309

Brasil L A, Gomes W J, Salomão R, Buffolo E - Ativação de citocina (fator de necrose tumoral - α) e resposta clínica induzida pela circulação extracorpórea. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 1996; 11 (3): 188-200.

RESUMO: A síndrome de resposta inflamatória sistêmica induzida pela circulação extracorpórea (CEC) é responsável pela disfunção de órgãos observada em alguns pacientes. O fator de necrose tumoral alfa (TNF α) tem sido implicado em várias manifestações clínicas no pós-operatório de cirurgia cardíacas com utilização de CEC, principalmente na síndrome vasoplégica. O objetivo deste estudo foi verificar a liberação e os possíveis efeitos do TNF α em pacientes com aterosclerose coronária, submetidos a revascularização do miocárdio, com ou sem CEC. Foram estudados 20 pacientes, sendo 10 com uso de CEC (**Grupo I**) e 10 sem CEC (**Grupo II**). Amostras sanguíneas seriadas foram colhidas durante a intervenção e até 48 horas após, sendo analisadas a presença de TNF α circulante (método imunoenzimático ELISA), contagem de leucócitos e velocidade de hemossedimentação (VHS). Também foram comparados na evolução pós-operatória dos pacientes os parâmetros hemodinâmicos (pressão arterial e frequência cardíaca), temperatura, tempo de intubação orotraqueal, sangramento pós-operatório e necessidade de drogas vasoativas. Na análise estatística foram considerados significativos valores de $p \leq 0,05$. No **Grupo I**, níveis plasmáticos de TNF α (> 10 pg/ml) foram detectados em 6 (60%) pacientes. No **Grupo II** não ocorreu detecção da citocina. Os picos de TNF α ocorreram logo após o início da CEC e foram detectados até 48 horas após. Houve maior predominância no **Grupo I** em relação ao **Grupo II** de hipotensão arterial ($7,4 \pm 1,0$ vs $8,5 \pm 0,67$), maior necessidade de drogas vasoativas (8 vs 1), frequência cardíaca mais elevada ($114,2 \pm 8,0$ vs 98 ± 10 bpm), maior hipertemia ($37,17 \pm 0,54$ vs $36,67 \pm 0,35^\circ\text{C}$), maior sangramento pós-operatório (820 ± 120 ml vs 360 ± 84 mL), tempo de intubação orotraqueal mais prolongado ($13,6 \pm 2,2$ vs $9,3 \pm 1,4$ horas) e maior leucocitose. Concluímos que a CEC induz a liberação de TNF α e predispõe a alterações hemodinâmicas e orgânicas que podem ser deletérias para os pacientes. É possível que o TNF α esteja envolvido na fisiopatogenia das alterações observadas no presente estudo e a inibição de sua ativação poderia, então, contribuir para minimizar estes efeitos.

DESCRITORES: Fator de necrose de tumor, sangue, citocina. Revascularização do miocárdio. Circulação extracorpórea, efeitos adversos. Arteriosclerose coronária.

INTRODUÇÃO

A circulação extracorpórea é essencial na maioria das cirurgias cardíacas. Lesões teciduais associadas a disfunções orgânicas, particularmente no coração e pulmões, podem ocorrer após a utilização da circulação extracorpórea (CEC) (1).

Cirurgias cardíacas com uso de CEC podem produzir uma resposta inflamatória sistêmica, associada a lesões orgânicas e aumento da morbidade pós-operatória. Como fatores causais incluímos o trauma cirúrgico, contato do sangue com o circuito extracorpóreo e lesões de reperusão após o término da CEC (2).

Trabalho realizado na Disciplina de Cirurgia Cardiovascular da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil Apresentado ao 23º Congresso Nacional de Cirurgia Cardíaca, Recife, PE, 20 a 23 de março 1996.

*Da Escola Paulista de Medicina.

Endereço para correspondência: Luiz Antônio Brasil, Escola Paulista de Medicina, Disciplina de Cirurgia Cardiovascular, Rua Napoleão de Barros, 715, 3º andar, São Paulo, SP, Brasil. CEP: 04024-002.

O contato do sangue com superfícies não biológicas do circuito extracorpóreo durante a CEC desencadeia a ativação do sistema complemento, de fatores da coagulação, a fibrinólise, a cascata de caliceína e os neutrófilos, com liberação de enzimas proteolíticas e produção de radicais livres de O_2 (2,3).

O estímulo destes fatores produz uma resposta inflamatória sistêmica referida como "Síndrome Pós-perfusão". Ocorre ativação leucositária e as respostas humoral e celular sistêmicas se manifestam, com presença de leucocitose, aumento da permeabilidade capilar, acúmulo de líquido intersticial e disfunção de órgãos, ocasionados por lesão endotelial (2,4).

Clinicamente, a síndrome inflamatória pós-perfusão se caracteriza pela presença de febre, taquicardia, hipotensão arterial, coagulopatia, liberação de radicais livres de oxigênio e disfunções orgânicas no pós-operatório (5,6).

A ativação do sistema plasmático e celular sanguíneo levando à reação inflamatória sistêmica se assemelha à ativação por endotoxinas, verificada nas sepses gram-negativas (7). Recentes estudos mostraram que as endotoxinas podem estar presentes durante a CEC (8,9).

As endotoxinas são lipopolissacarídeos derivados das paredes das bactérias gram-negativas em degradação. Seus efeitos biológicos incluem a ativação do sistema complemento, da cascata da coagulação ou de ambos, sendo um caminho alternativo para a liberação de radicais livres, em resposta à ativação de neutrófilos e aumento da adesividade das células endoteliais (10).

Durante a CEC pode ocorrer vasoconstrição esplâncica, com isquemia da mucosa intestinal e, como consequência, liberação de endotoxinas na corrente sanguínea, com diminuição de sua eliminação após a CEC, devido à disfunção do sistema reticuloendotelial (8,10,11).

Um quadro atípico de síndrome pós perfusão que guarda estreita relação clínica e hemodinâmica com a sepsé foi descrito nos últimos anos e denominado Síndrome Vasoplégica (12). Apresenta resistência vascular sistêmica diminuída, com débito cardíaco alto, pressões de enchimento ventricular baixas, hipotensão e taquicardia.

Recentes estudos revelam que, em resposta às endotoxinas, pode ocorrer liberação de citocinas durante e após a CEC (13,14). As citocinas são polipeptídeos endógenos produzidos por uma variedade de células. Elas são mensageiras intercelulares e atuam como um dos principais mediadores das lesões vasculares e também das disfunções orgânicas verificadas na sepsé e após a circulação extracorpórea (10,15).

Avanços nas técnicas imunológicas têm permitido medir os componentes plasmáticos e intracelulares destas respostas no pré, trans e pós-operatório. Isto inclui principalmente a ativação do complemento e a síntese de várias citocinas, incluindo o fator de necrose tumoral (TNF α) e as interleucinas, que servem como marcadores da intensidade do processo inflamatório produzido durante a circulação extracorpórea (10,15).

O TNF α é liberado em resposta às endotoxinas e produtos bacterianos gram-negativos, sendo considerado o principal mediador envolvido na fisiopatologia da sepsé produzida por bactérias gram-negativas (16-18). Esta citocina, liberada pelos monócitos e macrófagos ativados, é um dos principais fatores envolvidos na fisiopatologia da febre. O TNF α induz febre, taquicardia e hipotensão arterial (14,19).

A caquexina ou TNF α inclui-se no grupo das citocinas que são glicoproteínas, não imunoglobulinas, liberadas por células vivas do hospedeiro e que agem não enzimaticamente, regulando diversas funções celulares (20).

A produção do TNF α é feita principalmente pelos macrófagos. Entretanto, outras células produzem TNF α , como os linfócitos T, mastócitos, células naturais "killer", células endoteliais, "mast cells" células de Langerhans, astrócitos, células do músculo liso e células de Kupffer fetal humana (17,21-24).

Vários estímulos, como as endotoxinas, partículas virais, fungos e porção C5a do complemento, são capazes de provocar a produção de TNF α pelos macrófagos, entre estes o LPS é o mais potente (25,26).

Após a indução pelo LPS, o TNF α é rapidamente sintetizado, ocorrendo elevação do nível plasmático após 20 minutos, com pico entre 60 min e 90 min, não sendo mais detectável após 4 horas (19). A meia-vida é curta, de 6 a 9 minutos, e a produção de TNF α em resposta ao estímulo com LPS parece ser limitada. Os macrófagos ativados são capazes de produzir grandes quantidades de proteína por breves períodos de tempo, e pequenas quantidades cronicamente (27).

São conhecidos dois receptores específicos para o TNF α , sendo um de 55KDa (TNF-R1) responsável por grande parte da atividade biológica do TNF α (28) e outro de 75KDa (TNF-R2), com função ainda não esclarecida.

Os receptores para o TNF α estão distribuídos em muitas células como hepáticas, renais, pele e trato gastrointestinal. Eles variam de 200 a 5000 moléculas/célula, e são responsáveis pela rápida eliminação desta molécula da corrente sanguínea (29-31).

Inicialmente, as mensurações do TNF α nos fluí-

dos orgânicos foram realizadas através de ensaios de citotoxicidade, pela sua atividade lítica sobre linhagens de células de fibrosarcoma de camundongo (células L929) (32).

Posteriormente, com as limitações deste procedimento, a citocina passou a ser dosada através da marcação com elementos radioativos do anticorpo específico anti-TNF α (radioimunoensaio) (33).

Atualmente, vem sendo utilizado amplamente, pela sua sensibilidade e facilidade de execução, o imunensaio com enzima ligada ou ELISA, através da ligação de enzimas ao anticorpo anti-TNF α (33,34).

As múltiplas atividades biológicas do TNF α determinaram um crescente interesse na avaliação do comportamento dessa citocina, em diversas situações (33,34).

RUS et al. (35), em 1991, estudando cadáveres portadores de doença aterosclerótica, verificaram a presença de TNF α nas paredes das grandes artérias e concluíram que o TNF α em parede arterial aterosclerótica humana poderia ser ativado e envolvido nos eventos inflamatórios associados com aterosclerose.

VADDI et al. (36) (1994) realizaram estudo para investigar a produção de citocinas por leucócitos mononucleares de pacientes com doença cardíaca isquêmica. A secreção aumentada de citocina na doença cardíaca isquêmica pode ter papel na geração de radicais livres de oxigênio, lesão endotelial, depósito e ativação de elementos celulares na parede dos vasos e possivelmente na progressão da aterosclerose.

Recentes estudos (2,13,14,37) têm demonstrado a liberação de citocinas, incluindo o TNF α como fatores que contribuem para o aparecimento da síndrome de resposta inflamatória sistêmica, verificada após cirurgias cardíacas, com o uso de circulação extracorpórea (5,7,10).

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é estudar a liberação do TNF α e avaliar seus efeitos em pacientes portadores de aterosclerose coronária, submetidos a cirurgia de revascularização do miocárdio, com e sem utilização de circulação extracorpórea.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

No período compreendido entre janeiro e junho de 1995, 20 pacientes foram selecionados para este estudo, portadores de insuficiência coronária, sub-

metidos de maneira consecutiva a cirurgia de revascularização do miocárdio.

Todos os pacientes foram operados pela equipe cirúrgica da Disciplina de Cirurgia Cardiovascular da Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina, no Hospital São Paulo.

Os pacientes foram divididos em dois grupos:

Grupo I - 10 pacientes operados com uso de circulação extracorpórea.

Grupo II - 10 pacientes operados sem auxílio da circulação extracorpórea.

Os pacientes portadores de diabetes mellitus insulino-dependentes, de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), que faziam uso de corticóides ou antiinflamatórios não hormonais, e os que já haviam sido submetidos a cirurgia cardíaca prévia, foram excluídos deste estudo.

A técnica anestésica empregada seguiu a rotina do Serviço, com indução através de diazepam (50 mg-Ev), fentanil (50 mcg/kg), hipnomidate (0,4 mcg/kg) e curarização com pancurônio (0,1 mg/kg). A anestesia foi mantida com infusão de fentanil, diazepam e inalação de isoflurano. Todos os pacientes foram ventilados com oxigênio a 100%.

A abordagem cirúrgica em todos os pacientes foi através de toracotomia mediana transternal.

Nos pacientes do **Grupo I**, a circulação extracorpórea foi instalada com canulação de aorta ascendente e drenagem venosa através de cava única, após heparinização sistêmica com 4 mg/kg, repetida de acordo com o TCA (tempo de coagulação ativado), com o objetivo de mantê-lo acima de 450 segundos.

Em todos os casos foi usado oxigenador de membrana (OXIM II-34, MACCHI) acompanhado de reservatório de cardiomioma e filtro de linha arterial, e com tubos das linhas arterial e venosa confeccionados em PVC (cloreto de polivinila). O circuito extracorpóreo foi lavado previamente com solução de Ringer Lactato, desprezada antes da colocação do perfusato.

A composição do perfusato dependeu das condições prévias do paciente, e a hemodiluição total foi empregada, sempre que possível, com volume de 1500 ml de solução de Ringer Lactato. Acréscimo de sangue, quando necessário, foi feito no sentido de manter o hematócrito entre 26% e 30%.

Como método de proteção miocárdica foi utilizada cardioplegia sangüínea hipotérmica anterógrada intermitente (a cada 15 minutos), associada a hipotermia sistêmica moderada (29°C).

Nos pacientes operados sem circulação extra-

corpórea (**Grupo II**), foi seguida a técnica do Serviço⁽⁶⁰⁾, com heparinização sistêmica (2 mg/kg) e uso de Verapamil EV com o objetivo de diminuir a frequência cardíaca. Após a dissecação da artéria coronária, esta foi garroteada proximal e distalmente, seguida de sua abertura e realização da anastomose distal. Posteriormente, dependendo do enxerto, foi realizado pinçamento lateral da aorta ascendente, para feitura da anastomose proximal.

A neutralização da heparina realizada nos dois grupos foi feita com infusão venosa lenta de sulfato de protamina (1:1), diluída em soro glicosado a 5%.

Antibioticoterapia profilática foi realizada em todos os pacientes, seguindo normas da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar, do Hospital São Paulo, com administração de 2g de cefazolina EV, uma hora antes da operação e, em seguida, 1g EV 8/8 horas, até o 3º dia de pós-operatório.

Terminada a operação, os pacientes em normotemia foram conduzidos à Unidade de Pós-operatório de Cirurgia Cardíaca, com intubação orotraqueal, sendo ventilados através de respiradores volumétricos, com FIO_2 necessária para manter a PaO_2 acima 100 mmHg.

A reposição de volume foi feita através de soluções cristalóides acrescidas de eletrólitos, e colóides, se necessário, no sentido de manter bons parâmetros hemodinâmicos, equilíbrio hidroeletrólítico e ácido-básico. A taxa de hemoglobina foi corrigida sempre quando esteve abaixo de 9 mg/dl, com reposição de concentrado de glóbulos. Foram prescritos, concomitantemente, nitratos e analgésicos e manutenção da antibioticoterapia profilática. Drogas vasoativas e inotrópicas foram usadas se necessário. Não foram prescritos antiagregantes plaquetários ou qualquer tipo de antiinflamatório.

Durante a permanência dos pacientes na Unidade de Pós-Operatório (48 horas), foram monitorizados: pressão arterial média, frequência cardíaca e temperatura axilar, de hora em hora até a extubação orotraqueal e, em seguida, de 2/2 horas. Após o registro destes parâmetros, os valores médios foram calculados para cada paciente. Foi também registrado o volume total de sangramento pós-operatório até a retirada dos drenos, e o tempo total de intubação orotraqueal.

Os parâmetros laboratoriais analisados nos dois grupos foram: contagem de leucócitos, velocidade de hemossedimentação (VHS), e dosagem do fator de necrose tumoral alfa ($\text{TNF}\alpha$), através do ensaio imunoenzimático (ELISA).

Foram colhidas amostras sanguíneas seriadas para dosagem destes parâmetros, da artéria radial,

e da linha arterial da CEC durante a perfusão, em dois tubos de ensaio (5ml em cada), sendo um tubo enviado prontamente ao laboratório para dosagem dos leucócitos e do VHS. No outro tubo, após centrifugação com 5 RPM a 7000 RPM, durante 10 minutos, foi separado o plasma, dividido em alíquotas de aproximadamente 0,5 ml e estocado em congelador (-70°C) até a realização do teste para dosagem do $\text{TNF}\alpha$.

O tempo de coleta das amostras foi o seguinte:

Grupo I - Cirurgias com CEC

Amostra 1 - No início da cirurgia (pré heparinização e pré CEC)

Amostra 2 - No início da CEC, 10 minutos após o pinçamento aórtico

Amostra 3 - Após despinçamento aórtico e protamina.

Amostra 4 - No final da operação

Amostra 5 - 12 horas de P.O.

Amostra 6 - 24 horas de P.O.

Amostra 7 - 48 horas de P.O.

Grupo II - Cirurgias sem CEC

Amostra 1 - No início da operação (pré heparina)

Amostra 2 - 10 minutos após o garroteamento da coronária

Amostra 3 - Após desgarroteamento da coronária e protamina

Amostra 4 - No final da operação

Amostra 5 - 12 horas de P.O.

Amostra 6 - 24 horas de P.O.

Amostra 7 - 48 horas de P.O.

MÉTODO ESTATÍSTICO

Para análise dos resultados foram aplicados os testes de Mann-Whitney, a Análise de Variância por postos de Friedman, Teste de Comparações Múltiplas e Teste Exato de Fisher.

Em todos os testes fixou-se em 0,05% ou 5% ($\alpha \leq 0,05$) o nível de rejeição da hipótese de nulidade.

RESULTADOS

A análise dos grupos quanto ao sexo mostrou, no **Grupo I**, 6 pacientes do sexo masculino (60%)

e 4 do sexo feminino (40%). No **Grupo II** houve predomínio do sexo masculino com 7 pacientes (70%) e 3 pacientes (30%) do sexo feminino.

A idade variou nos dois grupos de 44 anos a 74 anos com média de 64 anos ($\pm 8,2$) no **Grupo I**, e média de 63 anos ($\pm 9,3$) no **Grupo II**, não havendo, portanto, diferença significativa entre os grupos.

O peso variou no **Grupo I** de 50 a 77 kg (média: $65,3 \pm 10,2$), e no **Grupo II**, de 50 kg a 96 kg (média: $9,6 \pm 16,2$). A altura no **Grupo I** foi 1,50 a 1,75m (média: $1,65 \pm 0,09$); no **Grupo II** variou de 1,52m a 1,84m (média: $1,68 \pm 0,11$). Para melhor análise destas duas variáveis (peso e altura) visando à comparação dos grupos, calculamos o índice de massa corpórea (IMC), que se traduz pela divisão do peso, pela altura em metros ao quadrado (P/A^2), e obtivemos IMC no **Grupo I** de 23,8; no **Grupo II**, ele foi de 24,3, mostrando que não houve diferença significativa, quanto ao IMC, entre os grupos.

Quanto ao número de enxertos (pontes) realizados nos dois grupos, tivemos no **Grupo I** 1 paciente que recebeu 2 (10%) enxertos, 7 pacientes receberam 3 enxertos (70%) e 2 pacientes 4 (20%) enxertos. No **Grupo II**, pacientes operados sem circulação extracorpórea, tivemos 4 pacientes revascularizados com 1 (40%) enxerto, 2 pacientes com 2 (20%) enxertos e 4 pacientes com 3 (40%) enxertos. Relacionando o número de enxertos realizados com e sem circulação extracorpórea com os pacientes operados, encontramos, no **Grupo I**, média de 3,1 enxertos por paciente e, no **Grupo II**, 2 enxertos por paciente.

O tempo total de cirurgia variou, no **Grupo I**, de 260 min a 360 min, com média de $286,5 \pm 34,5$. Neste grupo em que os pacientes foram operados com utilização de circulação extracorpórea, o tempo total de CEC variou de 85 min a 160 min, com média de $109 \pm 26,5$, e o tempo de anóxia foi de 55 min a 112 min (média: 74 ± 16). No **Grupo II**, o tempo cirúrgico foi de 135 min a 240 min, com média de $195 \pm 35,2$, ocorrendo diferença significativa quanto ao tempo de cirurgia (com CEC > sem CEC).

Com relação à perda sangüínea no pós-operatório, verificou-se uma diferença significativa entre os grupos (com CEC > sem CEC). O total de sangramento no **Grupo I** variou de 650 ml a 1050 ml (média: 820 ± 120) e no **Grupo II** foi de 250 ml a 500 ml (média: 360 ± 84) (Gráfico 1).

O tempo total de intubação orotraqueal, demonstrado na Tabela 5, foi no **Grupo I**, de 10 a 16 horas. (média: $13,6 \pm 2,2$), e no **Grupo II** variou de 8 a 12 horas (média: $9,3 \pm 1,4$), sendo significante esta diferença (com CEC > sem CEC) (Gráfico 2).

GRÁFICO 1
TOTAL DE SANGRAMENTO PÓS-OPERATÓRIO

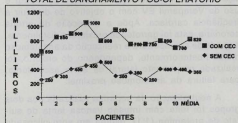
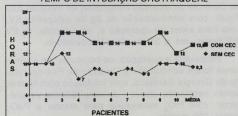
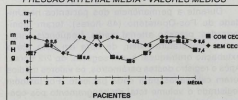


GRÁFICO 2
TEMPO DE INTUBAÇÃO OROTRAQUEAL



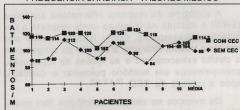
A análise dos valores médios da pressão arterial em mmHg (PAM), nos dois grupos, revelou no **Grupo I** uma variação de 6 mmHg a 9 mmHg (média: $7,4 \pm 1$), e no **Grupo II** esta variação ocorreu entre 7 e 9 mmHg (média: $8,5 \pm 0,67$), havendo diferença significativa entre os grupos (com CEC < sem CEC) (Gráfico 3).

GRÁFICO 3
PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA - VALORES MÉDIOS



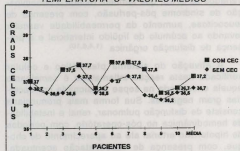
Com relação à frequência cardíaca observada nos dois grupos, segundo seus valores médios, durante o período de internação dos pacientes na unidade de pós-operatório variou no **Grupo I**, de 102 bpm a 124 bpm (média: $114,2 \pm 8$), enquanto que no **Grupo II**, esteve entre 84 bpm a 112 bpm (média: 98 ± 10), havendo diferença significante entre os grupos (com CEC > sem CEC) (Gráfico 4).

GRÁFICO 4
FREQÜÊNCIA CARDÍACA - VALORES MÉDIOS



Os valores médios da temperatura, avaliados nos dois grupos, mostraram, no Grupo I, variação entre 36,5°C a 37,8°C (média: 37,17 \pm 0,54), e no Grupo II, a temperatura esteve entre 36,2°C e 37,2°C (média: 36,67 \pm 0,35), demonstrando que a temperatura foi significativamente mais elevada no Grupo I, em relação ao Grupo II (Gráfico 5).

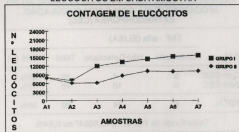
GRÁFICO 5
TEMPERATURA °C - VALORES MÉDIOS



Analisando a contagem dos leucócitos, observamos, após cálculo da média de cada amostra de todos os pacientes em cada tempo, que houve variação significativa entre as amostras colhidas em tempos diferentes, tanto no Grupo I como no Grupo II, com presença de leucocitose nos dois grupos. O aumento do número de leucócitos foi mais significativo no Grupo I, com elevação ocorrendo durante a CEC, elevando-se gradualmente e atingindo níveis máximos com 24 h a 48 h após a operação (Gráfico 6).

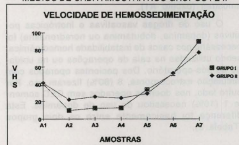
A Velocidade de Hemossedimentação (VHS) apresentou nos dois grupos uma diferença significativa em cada amostra, revelando um declínio progressivo após o início da operação e aumento gradual, atingindo valores iguais ou mais elevados que o inicial, após 48 horas. Este fenômeno foi observado em ambos os grupos.

GRÁFICO 6
COMPARAÇÃO DA LEUCOCITOSE NOS GRUPOS I E II DE ACORDO COM OS VALORES MÉDIOS DE LEUCÓCITOS EM CADA AMOSTRA



Quando realizada a comparação entre os dois grupos, os níveis só foram significativos nas amostras 2 e 3, isto é, durante a circulação extracorpórea (com CEC < sem CEC). Nas demais amostras não houve diferença estatisticamente significante entre os dois grupos. Ocorreu uma diminuição significativa do VHS durante a circulação extracorpórea, com aumento gradual nos dois grupos, após a operação, atingindo níveis mais elevados que o inicial, com 48 horas após a cirurgia (Gráfico 7).

GRÁFICO 7
VARIAÇÃO DO VHS COMPARANDO OS VALORES MÉDIOS DE CADA AMOSTRA NOS GRUPOS I E II



O fator de necrose tumoral alfa (TNF α) foi detectado somente em paciente do Grupo I. Dos 10 pacientes operados com circulação extracorpórea, em 6 (60%), a citocina foi positiva (Tabela 1).

Os níveis plasmáticos de TNF α variaram de 14,3 pg/ml a 155,7 pg/ml. Não houve nenhuma detecção na amostra 1, ou seja, pré-CEC. A detecção de TNF α foi mais freqüente na amostra 2 (66,6%), ou seja, durante a CEC, após o pinçamento aórtico. A citocina também foi detectada após a CEC e até 48 horas após a operação (Gráfico 8).

TABELA 1

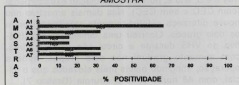
PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE TNF - α PLASMÁTICO, EM PACIENTES SUBMETIDOS A REVASCULARIZAÇÃO DO MIOCÁRDIO (R.M.), COM E SEM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA (CEC)

R.M.	TNF - α (ELISA)			%TNF (+)
	Detectado	Não Detectado	Total	
Com CEC	6	4	10	60%
Sem CEC	0	10	10	0%
TOTAL	6	14	20	30%

Teste Exato de Fisher - $p=0,0054^*$ ou 0,54%

GRÁFICO 8

FREQÜÊNCIA DE DETECÇÃO DE TNF EM CADA AMOSTRA



Em 1 paciente, onde o tempo de CEC foi prolongado, a detecção de TNF α foi positiva em todas as amostras (exceto A1).

O uso de drogas vasoativas e inotrópicas positivas (dopamina, dobutamina ou noradrenalina) foi necessário nos casos de instabilidade hemodinâmica, sendo utilizadas na sala de operações ou na unidade de pós-operatório. Dos pacientes operados com circulação extracorpórea, 8 (80%) fizeram uso. Por outro lado, nos doentes operados sem CEC somente 1 (10%) necessitou do uso de dopamina. Esta diferença foi basicamente entre os dois grupos (Tabela 2).

TABELA 2

USO DE DROGAS VASOATIVAS EM PACIENTES SUBMETIDOS A REVASCULARIZAÇÃO DO MIOCÁRDIO (R.M.), COM E SEM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA (CEC)

R.M.Sim	Drogas Vasoativas			% Uso drogas
	Não	Total		
Com CEC	8	2	10	80%
Sem CEC	1	9	10	10%
TOTAL	9	11	20	45%

Teste Exato de Fisher - $p=0,0027^*$ ou 0,27%

COMENTÁRIOS

A síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS) é descrita na literatura como resposta à circulação extracorpórea. Como fatores causais são citados o trauma cirúrgico, o contato do sangue com o circuito extracorpóreo e as lesões de reperfusão, principalmente em território pulmonar e cardíaco, após a retirada da CEC (3,4,7,10).

Os avanços no campo imunológico têm possibilitado a detecção de inúmeros fatores responsáveis pela reação humoral e celular que levam ao aparecimento desta síndrome. Estes incluem a ativação do sistema complemento, da coagulação, fibrinólise, da cascata das calicreínas, presença de endotoxinas circulantes, ativação de polimorfonucleares com posterior degradação, causando liberação de enzimas proteolíticas, produção de radicais livres e a síntese de várias citocinas pelos leucócitos polimorfonucleares ativados (1,6,10).

Os pacientes submetidos a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea apresentam graus variados da SRIS, que também recebe a denominação de síndrome pós-perfusão, com presença de leucocitose, aumento da permeabilidade vascular levando ao acúmulo de líquido intersticial e à presença de disfunção orgânica (1,4,6,10).

A ativação do sistema plasmático e celular verificada nesta reação inflamatória é semelhante àquela encontrada na sepe ocasionada por bactérias gram negativas. Sua forma mais pronunciada consiste de disfunção pulmonar, renal e instabilidade hemodinâmica no pós-operatório, com períodos de hipotensão arterial até ao aparecimento de choque, com presença de vasodilatação acentuada, necessitando de altas doses de drogas vasoativas (14). Este quadro foi denominado de síndrome vasoplégica e é hoje, em nosso meio, a mais temível complicação pós-operatória da cirurgia cardíaca com CEC, com mortalidade em torno de 25% (12).

A ativação do sistema complemento com produção de anafilatoxinas (C3a e C5a), após o contato do sangue com a superfície artificial (não endotelizada) do circuito extracorpóreo, é considerada como um dos principais fatores envolvidos na reação inflamatória (3,4). Níveis de C3a aumentam rapidamente no início e diminuem no final da CEC, mantendo relação direta com o tempo de CEC, retornando aos valores pré CEC, com 48 horas. Disfunção cardíaca e pulmonar, falência renal e tendência ao sangramento têm sido relacionadas com os níveis de C3a até 3 horas após a perfusão (3,10). A ativação do complemento, isoladamente, não é suficiente para produzir lesões pulmonares, mas pequenos níveis de C5a podem induzir a agregação e marginação de neutrófilos no território pulmonar.

Recentes estudos demonstraram a presença de endotoxinas durante a circulação extracorpórea (8,9,39,40). Esta poderia ser causada por infusão venosa de substâncias não estéreis, por utilização de materiais contaminados do circuito extracorpóreo ou instrumental cirúrgico, ou pela ativação do sistema complemento em função do contato do sangue com superfícies não biológicas do circuito extracorpóreo (7,41).

A presença de endotoxinas na CEC é também relacionada como decorrente da isquemia da mucosa intestinal, relacionada com a duração do pinçamento aórtico ou da própria duração da circulação extracorpórea, onde ocorreria uma exposição dos órgãos a um período mais prolongado de fluxo não pulsátil da CEC, determinando, principalmente, uma vasoconstrição e consequente isquemia de órgãos do território esplâncnico. Esta endotoxemia seria devida à translocação de bactérias gram negativas do intestino, ocasionada por uma possível quebra de barreira da mucosa intestinal, que em condições normais impede a passagem de componentes tóxicos da luz intestinal para a corrente sangüínea (7-9,42).

Durante os últimos anos, consideráveis progressos têm sido observados no sentido de melhor compreensão dos mecanismos envolvidos nas reações induzidas pelas endotoxinas.

O reconhecimento de que células do sistema reticuloendotelial medeiam a atividade tóxica de endotoxinas, colocou os macrófagos em foco de interesse. Evidências diretas de um papel importante dos macrófagos no desenvolvimento do choque endotóxico têm sido demonstradas através de trabalhos experimentais (43).

Atualmente, está evidente que as atividades biológicas das endotoxinas não são diretamente devidas somente aos efeitos do LPS. Esses efeitos são causados indiretamente pela ação de mediadores endógenos produzidos por ação de endotoxinas (LPS), em locais específicos do organismo (30,43).

Várias citocinas têm sido relacionadas como participantes na mediação das reações causadas pelas endotoxinas. São produzidas por diferentes tipos de células e funcionam como mensageiros e mediadores de lesões teciduais (44). Uma das mais importantes é o fator de necrose tumoral alfa (TNF α), uma citocina produzida pelos macrófagos (30).

O TNF α foi descoberto por CARSWELL et al. (45), em 1975, e assim denominado por causar a necrose de alguns tumores. Originalmente o TNF α foi detectado em amostras de camundongos que haviam sido inoculados com o *Bacillus Calmette Guérin* (BCG) ou *Propionibacterium Acnes*, subseqüentemente tratados com LPS.

Hoje o TNF α é reconhecido como um importante mediador da atividade letal das endotoxinas. Sua toxicidade direta foi reconhecida inicialmente por BEUTLER et al. (30,46), em 1985, que redescobriram o TNF α como uma substância idêntica à caexina, um mediador sérico implicado nas síndromes consuntivas, presente nas doenças parasitárias e nas neoplasias. É distinguido do TNF β que é uma linfotóxina, por sua diferença estrutural da cadeia polipeptídica e também por seus efeitos.

O TNF α é um dos primeiros mediadores produzidos em resposta ao LPS, sendo sintetizado e liberado pelos macrófagos ativado por endotoxinas. É produzido também pela ativação de monócitos, linfócitos e células de Kupffer. Dentre os fatores que causam um aumento na síntese de TNF α incluem a fração C5a do complemento, a interleucina 1 e também as endotoxinas (10,47).

Após o estímulo com LPS, em trabalhos experimentais (30) e também em humanos (19) o TNF α se torna detectável no plasma em aproximadamente 30 minutos, com níveis máximos alcançados entre 60 min a 90 min, caindo progressivamente e se tornando indetectável após 3 a 4 h.

A fisiopatologia do choque séptico (endotóxico) revela que, nos casos onde ocorre agressão endotelial, lesões por isquemia, as endotoxinas liberadas por bactérias gram negativas levariam a uma síndrome de reação inflamatória sistêmica com proporções variáveis, desde a simples presença de febre acompanhada de leucocitose, até o aparecimento de choque.

Já na síndrome inflamatória pós-perfusão, haveria a ativação do sistema complemento após o contato do sangue com o circuito extracorpóreo ou por ação de endotoxinas, com consequente liberação de citocinas, dentre elas o TNF α , durante ou após a CEC, induzindo sérios danos para o organismo (7,10).

A instabilidade hemodinâmica verificada após a CEC com presença de hipotensão arterial ou ocorrência da síndrome vasoplégica, semelhante ao choque séptico, seria induzida pela ativação do complemento e produção de anafatoxinas (C3a e C5a) ou por ação de endotoxinas, que estimulariam os polimionucleares e estes liberariam citocinas, as quais seriam responsáveis pela hiporreatividade vascular e vasodilatação acentuada, disfunção miocárdica e pulmonar, culminando com falência de múltiplos órgãos e sistemas (7,10).

A significância de detecção de citocinas, durante e após a CEC, está relacionada com o grau de lesão tecidual, pois elas funcionariam como marcadores da intensidade da reação inflamatória. É também descrito haver um sinergismo entre os fatores

presentes nesta reação, com acentuação da resposta inflamatória (1,48).

HENNEIN et al (49) demonstraram a relação entre os níveis séricos de TNF α , IL-6 e IL-8, com alteração da função ventricular esquerda e isquemia miocárdica, sugerindo que estas citocinas possam ser as causadoras de depressão miocárdica no pós-operatório de pacientes operados com CEC.

A liberação de TNF α resulta no aparecimento de vários efeitos, como febre, leucocitose, hipotensão arterial, maior necessidade de drogas vasoativas e alterações da barreira endotelial ocasionada pela degradação de neutrófilos, resultando no aumento de líquido intersticial, levando a alterações da coagulação e comprometimento principalmente da função cardíaca e pulmonar (7,10,14).

É descrito na literatura a presença de TNF α em pacientes portadores de aterosclerose (35,36). Este estudo é inédito em comparar a liberação de TNF α em pacientes portadores de aterosclerose coronária, submetidos à cirurgia de revascularização do miocárdio, com e sem circulação extracorpórea.

A análise dos dois grupos estudados, em relação ao sexo, revelou predomínio do sexo masculino com 60% no Grupo I, e 70% no Grupo II. Com relação às variáveis idade, peso e altura, não houve diferença significativa entre os dois grupos ($p < 0,05$), mostrando serem os dois grupos homogêneos.

O TNF α foi detectado em 6 (60%) pacientes que foram revascularizados com auxílio da circulação extracorpórea. Os níveis plasmáticos de TNF α oscilaram entre 14,3 pg/ml e 155,7 pg/ml. Não houve detecção na amostra 1, ou seja, antes do início da circulação extracorpórea. A detecção de TNF α foi a mais frequente na amostra 2 (66,6%), durante a circulação extracorpórea, após o pinçamento aórtico, fato este também relatado em outros estudos (7,37,50). Houve detecção transitória de TNF α após a CEC no final da cirurgia e também com 12,24 e 48 horas após a cirurgia. Em 1 paciente houve detecção da citocina em todas as amostras (exceto A1), fato este relacionado com tempo de CEC mais prolongada (160 minutos), denotando a ocorrência de reação inflamatória mais acentuada neste paciente.

Nos pacientes operados sem CEC não ocorreu detecção da citocina, sugerindo que a presença de aterosclerose, como demonstrado em outros estudos (35,36), não é suficiente para causar a liberação de TNF α (5,48).

Os pacientes de Grupo I, operados com auxílio da circulação extracorpórea apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) com relação à pressão arterial, frequência cardíaca, temperatura e também quanto ao uso de drogas vasoativas. Este fato

pode estar relacionado com a reação inflamatória pós-perfusão, induzida pela circulação extracorpórea.

Os níveis da pressão arterial média foram mais baixos neste grupo de doentes, quando comparados com os pacientes do Grupo II, havendo com isso maior necessidade do uso de drogas vasoativas nestes doentes, com a finalidade de melhorar os parâmetros hemodinâmicos. A frequência cardíaca e a temperatura também apresentaram níveis mais elevados, em comparação com os pacientes operados sem circulação extracorpórea, denotando também a ação inflamatória.

Com relação à contagem de leucócitos, os dois grupos evoluíram com leucocitose. Houve uma queda não significativa do número de leucócitos no início da operação, que pode ter como causa a hemodiluição, e um aumento gradual dos leucócitos que se tornou significante ($p < 0,05$), concomitantemente com a circulação extracorpórea, atingindo níveis máximos com 24 h a 48 h após a operação. Esta leucocitose de origem inflamatória, que se tornou significativa após a liberação do pinçamento aórtico, pode ser devida aos produtos liberados por neutrófilos polimorfonucleares que foram ativados no pulmão e coração durante a parada circulatória. Além disso, o reaquecimento sanguíneo poderia estimular os componentes plasmáticos a reagirem com a superfície não biológica do circuito extracorpóreo, contribuindo também para a leucocitose (14).

O total de sangramento pelos drenos no período de pós-operatório foi mais significativo ($p < 0,05$) nos pacientes operados com circulação extracorpórea. Este fato pode ser decorrente do contato do sangue com superfícies não biológicas do circuito extracorpóreo, ativando o sistema complemento, com produção de anafilatoxinas, principalmente a fração C3a, predispondo maior sangramento pós-operatório (4). O contato do sangue com essa superfície pode também ativar o fator XII, dando início à via intrínseca da coagulação. O fator XIIa pode ativar a cascata de calicreínas e esta, ativada, produz bradicinina, causando a vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular. A fibrinólise é estimulada durante a CEC e os produtos gerados pela degradação do fibrinogênio podem prejudicar a formação de fibrina, a função plaquetária e causar lesão endotelial. A combinação destes efeitos podem levar à lesão capilar, com alterações da hemostasia, determinando maior perda sanguínea (6,10).

O tempo de intubação orotraqueal foi mais prolongado nos pacientes do Grupo I, sendo esta diferença significativa ($p < 0,05$), quando comparada com os pacientes do Grupo II. Os marcadores sistêmicos de resposta inflamatória podem não refletir adequadamente eventos intrapulmonares após a CEC. O período de reperfusão pulmonar é

crítico, ocorrendo liberação de enzimas e radicais livres pelos neutrófilos em degradação, que foram ativados durante a parada circulatória em nível pulmonar ⁽¹⁰⁾. Tem sido demonstrada a presença de TNF α e IL-1 em pacientes com grave comprometimento da função pulmonar, mas os níveis destas citocinas intra-alveolares ainda não foram investigados após a CEC ^(10, 51).

A velocidade de hemossedimentação apresentou uma queda nos dois grupos no início da operação. Durante a circulação extracorpórea esta queda foi significante ($p < 0,05$) nos pacientes do Grupo I. Após a cirurgia, os dois grupos apresentaram aumento progressivo do VHS, atingindo níveis mais elevados que o inicial com 24 h a 48 h após a cirurgia, sem significado estatístico, retornando aos níveis do período pré-operatório em torno do 7º dia de pós-operatório.

O reconhecimento de que as citocinas agem como mediadores da intensidade da reação inflamatória, induzida pela circulação extracorpórea, fez com que vários autores investigassem formas para atenuar e, mesmo, suprimir estes efeitos.

MARKEWITZ et al. ⁽⁵²⁾ demonstraram que o uso de indometacina e timopentina podem suprimir a liberação de citocinas após a CEC. Outros investigadores preconizaram a descontaminação seletiva do tracto gastrointestinal com o objetivo de reduzir a endotoxemia durante e após a CEC, com a resultante diminuição da produção de citocinas, ativação do complemento e subsequente diminuição da resposta inflamatória ⁽⁴²⁾.

O uso de corticosteroides também tem sido demonstrado ser eficaz ^(14,41,53,54) visando diminuir os efeitos sistêmicos induzidos pela liberação de citocinas durante e após a CEC. A pentoxifilina tem sido preconizada por alguns autores ^(58,59), na prevenção e inibição das ações das citocinas.

O emprego de hemofiltros durante a CEC foi

relatado na literatura, com o objetivo de retirar as citocinas da circulação, visando a diminuição da resposta inflamatória após a CEC ^(55,56).

Outros autores ^(6,57), com a finalidade de reduzir a ativação dos componentes sanguíneos através do contato do sangue com superfícies não biológicas do circuito extracorpóreo, demonstraram que a utilização de circuitos revestidos com heparina resulta na diminuição da ativação de mediadores responsáveis pela reação inflamatória sistêmica.

Avanços nessa área serão obtidos através de estudos prospectivos que permitam conhecer com maior profundidade a interação entre os mediadores das respostas humoral e celular, induzidas pela circulação extracorpórea, possibilitando também intervenções mais eficazes, no sentido de inibir os efeitos deletérios e reduzir a morbidade de pacientes submetidos à cirurgia cardíaca com o uso de circulação extracorpórea. Abre também a perspectiva de pesquisa de inibidores eficazes que possam contribuir para minorar os efeitos sistêmicos do uso da circulação extracorpórea.

CONCLUSÕES

- 1) A circulação extracorpórea induz a liberação do fator de necrose tumoral alfa (TNF α), e predispõe a alterações hemodinâmicas e orgânicas que podem ser deletérias para os pacientes.
- 2) Como o TNF α é capaz de induzir alterações hemodinâmicas e orgânicas, sugerimos que o mesmo desempenha importante papel na fisiopatogenia das alterações observadas neste estudo.
- 3) O bloqueio da ativação e produção de citocinas pode contribuir para minimizar essas alterações.

RBCCV 44205-309

Brasil L A, Gomes W J, Salomão R, Buffolo E - Cytokine activation (tumor necrosis factor - α) and clinical response induced by cardiopulmonary bypass. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 1996; 11 (3): 188-200.

ABSTRACT: Systemic inflammatory response syndrome induced by cardiopulmonary bypass (CPB) is responsible for organ dysfunctions observed in some patients. The tumor necrosis factor- α (TNF- α) has been implicated in many clinical manifestations following cardiac operations with CPB, mainly in the vasoplegic syndrome. The purpose of this study was to verify the TNF- α release and its possible effects in patients with coronary atherosclerosis undergoing coronary artery surgery with and without CPB. Twenty patients were studied, 10 with CPB (**Group I**) and 10 without CPB (**Group II**). Serial blood samples were obtained during and until 48 hours after surgery in order to measure circulating TNF- α presence (using enzyme-linked immunosorbent assay-ELISA), leukocyte count and erythrocytes sedimentation rate. Hemodynamic parameters as blood pressure and cardiac rate, body temperature, orotracheal tubing time, postoperative bleeding and inotropic drugs requirements were also compared. Statistical significance was assessed when the *p* value was less than 0.05. Serum levels of TNF- α (limit detection of the assay = 10 pg/mL) were detected in 6 patients from **Group I** (60%). This cytokine was detected in **Group II**. The TNF- α peaked soon after the CPB starting and remained detectable 48 hours postoperatively. The patients of **Group I** had hypotension in relation to **Group II** (7.4 ± 1.0 vs 8.5 ± 0.67). They also required more inotropic drugs (8 vs 1), had a higher cardiac rate (114.2 ± 8.0 vs 98 ± 10 bpm), hyperthermia (37.17 ± 0.54 vs $36.67 \pm 0.35^\circ\text{C}$), more postoperative bleeding (820 ± 120 mL vs 360 ± 84 mL), a longer orotracheal tubing time (13.6 ± 2.2 vs 9.3 ± 1.4 horas) and a more pronounced leucocytosis. We concluded that CPB induces the TNF- α release and leads hemodynamic and organic alterations that can be deleterious to patients. It may play a role on the pathophysiology of the alterations observed in this study and the inhibition of the TNF α could contribute to minimize these effects.

DESCRIPTORS: Tumor necrosis factor, blood, cytokine. Myocardial revascularization. Extracorporeal circulation, adverse effects.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Westaby S - Organ dysfunction after cardiopulmonary bypass: a systemic inflammatory reaction by the extracorporeal circuit. *Intensive Care Med* 1987; 13: 89-5.
- Butler J, Chong G L, Baigré R J, Pillai R, Westaby S, Rocher G M - Cytokine response to cardiopulmonary bypass with membrane and bubble oxygenation. *Ann Thorac Surg* 1992; 53: 833-8.
- Chenoweth D E, Cooper S W, Hugli T E, Stewart R W, Blackstone E H, Kirklín J W - Complement activation during cardiopulmonary bypass: evidence for generation of C3a and C5a anaphylatoxins. *N Engl J Med* 1981; 304: 497-503.
- Kirklín J K, Westaby S, Blackstone E H, Kirklín J W, Chenoweth D E, Pacifico A D - Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983; 86: 845-57.
- Casey L C - Role of cytokines in the pathogenesis of cardiopulmonary-induced multisystem organ failure. *Ann Thorac Surg* 1993; 56: 92-6.
- Steinberg B, Grossi E A, Schwartz D S et al. - Heparin bonding of bypass circuits reduces cytokine release during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1995; 60: 525-9.
- Jansen N J, Van Oeveren W, Gu Y J, Van Vliet M H, Eijlsman L, Wildeveuur C R - Endotoxin release and tumor necrosis factor formation during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1992; 54: 744-8.
- Andersen L W, Baek L, Degn H, Lehd J, Krasnik M, Rasmussen S P - Presence of circulating endotoxins during cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987; 93: 115-9.
- Rocke D A, Gaffin S L, Wells M T, Koen Y, Brock-Utine J G - Endotoxemia associated with cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987; 93: 832-7.
- Butler J, Rocher G M, Westaby S - Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993; 55: 552-9.
- Andersen L W, Landow L, Jansen E, Barker S - Association between gastric intramucosal pH and splanchnic endotoxin, antibody to endotoxin, and tumor necrosis factor- α concentrations in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Crit Care Med* 1993; 21:210-7.
- Gomes W J, Carvalho A C, Palma J H, Gonçalves Jr. I, Buffolo E - Vasoplegia syndrome: a new dilemma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 107: 942-3.
- Haeflner-Cavallion N, Rousselier N, Ponzio O - Induction of interleukin-1 production in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989; 98: 1100-6.

- 14 Jansen N J, Van Oeveren W, Van Der Broek L et al. - Inhibition by dexamethasone of the reperfusion phenomena in cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 102:515-25.
- 15 Moat N E, Shore D F, Evans T W - Organ dysfunction and cardiopulmonary bypass: the role of complement and complement regulatory proteins. *Eur J Cardiothorac Surg* 1993; 7: 563-73.
- 16 Beutler B & Cerami A - Cachetin: more than a tumor necrosis factor. *N Engl J Med* 1987; 316: 379-85.
- 17 Beutler B & Cerami A - The common mediator of shock cachexia and tumor necrosis. *Adv Immunol* 1988; 42: 213-31.
- 18 Tracey K J, Fong Y, Hesse D G et al. - Anti-cachetin / TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature* 1987; 330: 682-4.
- 19 Michie H R, Manogue K R, Spriggs D R et al. - Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. *N Engl J Med* 1988; 318: 1481-6.
- 20 Nathan C & Sporn M - Cytokines in context. *J Cell Biol* 1991; 113: 981-6.
- 21 Beutler B & Cerami A - Tumor necrosis, cachexia, shock and inflammation: a common mediator. *Ann Rev Biochem* 1988; 57: 505-18.
- 22 Beutler B - TNF in pathophysiology: biosynthetic regulation. *J Invest Dermat* 1990; 95 (Suppl.): 81-4.
- 23 Beutler B - The tumor necrosis factors: cachetin and lymphotoxin. *Hosp Pract* 1990; 15: 45-58.
- 24 Kutteh W H, Rainey W E, Beutler B, Carr B R - Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta production by human fetal kupffer cell. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 112-20.
- 25 Djeu J Y, Blanchard D K, Richards A L, Friedman H - Tumor necrosis factor induction by *Candida albicans* from human natural killer cells and monocytes. *J Immunol* 1988; 141: 4047-52.
- 26 Tracey K J, Vlassara H, Cerami A - Cachetin/tumor necrosis factor. *Lancet* 1989; 1: 1122-6.
- 27 Waage A, Halstensen A, Espevik T - Association between tumor necrosis factor and fatal outcome in patients with meningococcal disease. *Lancet* 1987; 14: 355-7.
- 28 Rothe J, Lesslauer W, Lotsher H et al. - Mice lacking the tumor necrosis factor receptor 1 are resistant to TNF-mediated toxicity but highly susceptible to infection by *Listeria monocytogenes*. *Nature* 1993; 364: 798-802.
- 29 Aggarwal B B, Kohr B J, Hass P E et al. - Human tumor necrosis factor production, purification and characterization. *J Biol Chem* 1985; 260: 2345-54.
- 30 Beutler B, Milsark I W, Cerami A - Cachetin/Tumor necrosis factor: production, distribution and metabolic fate in vivo. *J Immunol* 1985; 135: 3972-7.
- 31 Stauberg G B, Alyer R A, Aggarwal B B - Human tumor necrosis factor-alpha receptor: purification by immunofluorescence chromatography and initial characterization. *J Biol Chem* 1988; 263: 19098-104.
- 32 Flick D A & Gifford G E - Comparison of in vitro cell cytotoxic assays for tumor necrosis factor. *J Immunol Methods* 1984; 68: 167-75.
- 33 Santos B F C - Produção do fator de necrose de tumor por leucócitos mononucleares humanos [Tese. Mestrado] São Paulo: Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo, 1992. 65p.
- 34 Karhawi A S K - Avaliação dos níveis plasmáticos de fator de necrose tumoral-alpha (TNF-alpha), interleucina-6 (IL-6) e contagem de linfócitos-T CD4+ e CD8+ em pacientes com paracoccidiodiomíose [Tese. Mestrado] São Paulo: Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo, 1994. 123p.
- 35 Rus H G, Niculescu F, Vlaicu R - Tumor necrosis factor-alpha in human arterial wall with atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1993; 89: 247-54.
- 36 Vaddi K, Nicolini F A, Metha P, Metha J L - Increased secretion of tumor necrosis factor-alpha and interferon gamma by mononuclear leukocytes in patients with ischemic heart disease. *Circulation* 1994; 90: 694-9.
- 37 Casey W F, Hauser G J, Hanrallah R S, Midgley F M, Khan W N - Circulating endotoxin and tumor necrosis factor during pediatric cardiac surgery. *Crit Care Med* 1992; 20: 1090-6.
- 38 Holzheimer R G, Molloy R G, Gorfach H, Wilkert S, Herlein F - IL6 and TNF-alpha release in association with neutrophil activation after cardiopulmonary bypass surgery. *Infection* 1994; 22: 37-42.
- 39 Kharazmi A, Andersen L W, Baek L, Valerius N H, Laub M, Rasmussen J P - Endotoxaemia and enhanced generation of oxygen radicals by neutrophils from patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989; 98: 381-5.
- 40 Nilsson L, Kulander L, Nystrom S O, Eriksson O - Endotoxins in cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990; 100: 777-80.
- 41 Andersen L W, Baek L, Thomsen B S - Effect of methylprednisolone on endotoxaemia and complement activation during cardiac surgery. *J Cardiothorac Anesth* 1989; 3: 544-9.
- 42 Martinez-Pellus A E, Merino P, Bru M, et al. - Can selective digestive decontamination avoid the endotoxaemia and cytokine activation promoted by cardiopulmonary bypass? *Crit Care Med* 1993; 21: 1684-91.

- 43 Beutler B, Mahoney J, Trang N L, Pekala P, Cerami A - Purification of cachectin a lipoprotein lipase-suppressing hormone secreted by endotoxin-induced RAW 264.7 cells. *J Exp Med* 1985; 161: 984-95.
- 44 Fong Y, Moldawer L L, Shires G T, Lowry S F - The biologic characteristics of cytokines and their implications in surgical injury. *Surg Gynecol Obstet* 1990; 170: 363-78.
- 45 Carswell E A, Old L J, Kassel R L, Green S, Fiore N, Williamson B - An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 3666-70.
- 46 Beutler B, Milsark I W, Cerami A - Passive immunization against cachectin / tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin. *Science* 1985; 229: 869-71.
- 47 Okusawa S, Yancey K B, Van Der Meer J W M - C5a stimulates secretion of tumor necrosis factor from human mononuclear cells in vitro: comparison with secretion of interleukin-1 beta and interleukin-1 alpha. *J Exp Med* 1988; 168: 443-8.
- 48 Casey L C, Balk R A, Bone R C - Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome. *Ann Intern Med* 1993; 119: 771-8.
- 49 Hernein H A, Ebba H, Rodriguez J L et al. - Relationship of the proinflammatory cytokines to myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 108: 626-35.
- 50 Lahat N, Zlotnick A Y, Shtillar R, Bar I, Merin G - Serum levels of IL-1, IL-6 and tumor necrosis factors in patients undergoing coronary artery bypass grafts or cholecystectomy. *Clin Exp Immunol* 1992; 89: 255-60.
- 51 Millar A B, Foley N M, Singer M, Johnson N M, Meager A, Rook G A W - Tumor necrosis factor in bronchopulmonary secretions of patients with adult respiratory distress syndrome. *Lancet* 1989; 2: 712-4.
- 52 Markewitz A, Faist E, Lang S, Endres S, Hultner L, Reichart B - Regulation of acute phase response after cardiopulmonary bypass by immunomodulation. *Ann Thorac Surg* 1993; 55: 389-94.
- 53 Hill G E, Alonso E, Thiele G M, Robbins R A - Glucocorticoids blunt neutrophil CD11b surface glycoprotein impregnation during cardiopulmonary bypass in humans. *Anesth Analg* 1994; 79: 23-7.
- 54 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: 348-50.
- 55 Journois D, Pouard P, Greeley W J, Mauriat P, Vouhe P, Safran D - Hemofiltration during cardiopulmonary bypass in pediatric cardiac surgery. Effects on hemostasis, cytokines and complement components. *Anesthesiology* 1994; 81: 1181-9.
- 56 Millar A B, Armstrong L, Van Der Linden J et al. - Cytokine production and hemofiltration in children undergoing cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993; 56: 1499-502.
- 57 Gu Y J, Van Oeveren W, Akkerman C, Boonstra P W, Huyzen R J, Wildevuur C R - Heparin-coated circuits reduce the inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 105: 234-41.
- 58 Lilly C M, Sandhu J S, Ishizaka A - Pentoxifylline prevents tumor necrosis factor-induced lung injury. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 1361-8.
- 59 Sullivan G W, Carper H T, Novick W J, Mandell G L - Inhibition of the inflammatory action of interleukin-1 and tumor necrosis factor (alpha) on neutrophil function by pentoxifylline. *Infect Immunol* 1988; 56: 1722-9.
- 60 Buffolo E, Gomes W J, Andrade J C S et al. - Revascularização miocárdica sem circulação extracorpórea: resultados cirúrgicos em 1090 pacientes. *Arq Bras Cardiol* 1994; 62: 149-53.