

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Medicina  
Curso de Pós-Graduação em Cardiologia**

**Perfil imunoinflamatório e dosagem de troponina-I após cirurgia de  
revascularização miocárdica com circulação extracorpórea: implicações  
sobre a função ventricular esquerda**

**Dissertação de Mestrado**

**Autor: Neverton Savaris  
Orientadora: Dra Nadine Clausell**

**Dezembro/ 1998**

## AGRADECIMENTOS

Ao longo deste trabalho contei com o auxílio de várias pessoas, a quem desejo agradecer.

Aos médicos residentes, Dr Gerson Pereira de Oliveira e Armando Bocchi Barlem e as acadêmicas Raquel Goldhardt e Luciana M Dei Ricardi, sem os quais não teria conseguido executar a coleta de dados deste trabalho.

Aos colegas médicos anestesistas, Dr Miron Merten, Rosane Malheiros e Siluê Franzoni Dalmolin, que mostraram-se sempre prestativos e dispostos a ajudar.

Aos colegas cirurgiões cardiovasculares pela colaboração dispensada.

À equipe do Laboratório de Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, em especial ao Dr Jarbas de Oliveira, pelo apoio e auxílio na realização dos testes de ELISA.

Ao Laboratório Weinmann, em especial ao Dr Olivir Schenkel e Fernando de Almeida Berlitz pela realização das dosagens de troponina-I.

Aos médicos e funcionários do Serviço de Medicina Nuclear do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, sempre receptivos e atenciosos.

Às enfermeiras e funcionários do Centro de Terapia Intensiva do Hospital de Clínicas de Porto Alegre que colaboraram para o transporte dos pacientes.

À estaticista Luciana Bertoldi Nucci pelo auxílio na organização dos dados e análise estatística.

À minha orientadora Dra Nadine Clausell pelo incentivo, orientação e amizade durante toda esta jornada.

Aos meus pais, pela educação que me foi dada.

À Daniela pelo apoio e compreensão nos momentos difíceis.

Aos pacientes que consentiram com o estudo mesmo diante de um momento de apreensão e expectativa quanto ao resultado do tratamento.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

# ÍNDICE

<b>SINOPSE</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	iii
<b>ABREVIATURAS</b> .....	v
<b>LISTA DE FIGURAS E TABELAS</b> .....	vi
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>1. Resposta inflamatória sistêmica à circulação extracorpórea</b> .....	1
<b>1.1 Sistema de amplificação humoral</b> .....	4
<b>1.2 Citoquinas</b> .....	7
<b>1.3 Interação entre neutrófilos e células endoteliais</b> .....	11
<b>2. Disfunção ventricular após à circulação extracorpórea</b> .....	13
<b>2.1 Disfunção ventricular e citoquinas</b> .....	14
<b>3. Lesão miocárdica em cirurgia cardíaca</b> .....	19
<b>HIPÓTESE</b> .....	24
<b>OBJETIVOS</b> .....	25
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	26
<b>1. População em estudo</b> .....	26
<b>2. Delineamento do estudo</b> .....	26
<b>3. Seleção da amostra</b> .....	26
<b>3.1 Critérios de inclusão</b> .....	26
<b>3.2 Critérios de exclusão pré-operatórios</b> .....	26
<b>3.3 Critérios de exclusão pós-operatórios</b> .....	27
<b>4. Padronização técnica</b> .....	27
<b>4.1 Técnica anestésica</b> .....	27
<b>4.2 Monitorização transoperatória</b> .....	28
<b>4.3 Exames transoperatórios</b> .....	28
<b>4.4 Circuito extracorpóreo</b> .....	28
<b>5. Análise da função ventricular esquerda</b> .....	29
<b>6. Análise das citoquinas e troponina-I</b> .....	29
<b>6.1 Método de colheita</b> .....	29

6.2 Método de dosagem plasmática dos marcadores biológicos.....	30
7. Análise estatística.....	31
8. Considerações éticas.....	32
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>33</b>
1. Características clínicas da amostra.....	33
2. Comportamento da fração de ejeção nos grupos A e D.....	35
3. Concentração plasmática seqüencial do TNF- $\alpha$ e seus receptores em todos os pacientes.....	36
4. Concentração plasmática seqüencial da interleucina-6 em todos os pacientes.....	40
5. Concentração sérica seqüencial de troponina-I em todos os pacientes.....	41
6. Concentrações plasmáticas seqüenciais dos marcadores biológicos nos dois grupos de pacientes.....	42
7. Correlações entre os níveis séricos de troponina-I e as variáveis clínicas.....	48
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>54</b>
Características clínicas da amostra.....	54
Disfunção miocárdica pós-operatória.....	55
Concentrações plasmáticas das citocinas.....	56
Concentrações séricas da troponina-I.....	59
Correlação entre os marcadores biológicos e a fração de ejeção do ventrículo esquerdo.....	62
Limitações do estudo.....	63
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>66</b>
<b>ESTUDOS FUTUROS.....</b>	<b>67</b>
<b>ANEXO I.....</b>	<b>68</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>71</b>



## SINOPSE

**Introdução:** O uso da circulação extracorpórea em cirurgias cardíacas promove lesão miocárdica e liberação de citocinas que podem estar associadas ao desenvolvimento da disfunção ventricular pós-operatória. Entretanto, a relação seqüencial e temporal desta possível associação não está completamente elucidada.

**Objetivo:** Avaliar a evolução seqüencial dos níveis plasmáticos do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), de seus receptores solúveis I e II (TNF-RI, TNF-RII), da interleucina-6 (IL-6) e da troponina-I (Tn-I) nas primeiras 24 horas após a cirurgia de revascularização do miocárdio com circulação extracorpórea, bem como sua associação com a fração de ejeção do ventrículo esquerdo no pré-operatório, 24 horas e 7 dias após a cirurgia.

**Material e métodos:** Foram estudados 19 pacientes submetidos à revascularização miocárdica com circulação extracorpórea com boa função ventricular pré-operatória e com pós-operatório sem complicações. Foram colhidas amostras de sangue arterial após a indução anestésica, 3, 8 e 24 horas após o início da circulação extracorpórea e analisadas posteriormente através do método de ELISA para os diversos marcadores biológicos de interesse. Todos os pacientes tiveram a fração de ejeção do ventrículo esquerdo quantificada através de ventriculografia radioisotópica no pré-operatório, 24 horas e 7 dias após a cirurgia.

**Resultados:** Os pacientes foram divididos em dois grupos: grupo A (aumento da fração de ejeção em 24 horas, n=10) e grupo D (diminuição da fração de ejeção em 24 horas, n= 9). Não houve diferenças entre os grupos com relação as variáveis clínicas (idade, peso, sexo, número de enxertos, frequência de mamárias, tempo de circulação extracorpórea e tempo de pinçamento aórtico). As concentrações plasmáticas de TNF- $\alpha$ , TNF-RI, TNF-RII, IL-6 e Tn-I variaram de forma significativa ( $p \leq 0,001$ ) ao longo das medidas seqüenciais. Não houve diferença entre os valores plasmáticos dos marcadores biológicos quando comparado

os grupos A e D, exceto por uma tendência para maiores níveis do TNF- $\alpha$  em 3 horas (grupo A= 12,7 pg/ml e grupo D= 25,3 pg/ml p= 0,06). Houve correlação entre os níveis séricos de Tn-I de 8 e 24 horas e os tempos de circulação extracorpórea (R= 0,46 e R= 0,5 respectivamente) e pinçamento aórtico (R= 0,49 e R= 0,59 respectivamente). Os níveis de Tn-I de 8 horas correlacionaram-se inversamente com a fração de ejeção de 24 horas de pós-operatório (R= - 0.44 p= 0,06).

**Conclusão:** A cirurgia de revascularização miocárdica com circulação extracorpórea está associada a uma elevação plasmática de TNF- $\alpha$ , TNF-RI, TNF-RII, IL-6 e Tn-I nas primeiras 24 horas de pós-operatório. Nossos dados não demonstram correlação entre os níveis de citocinas e a depressão da fração de ejeção pós-operatória, entretanto sugere que haja associação entre os níveis de TNF- $\alpha$  e a fração de ejeção de 24 horas. Os níveis séricos de troponina-I correlacionam-se diretamente com o tempo de isquemia transoperatória e inversamente com a função ventricular de 24 horas, sugerindo ser um marcador da lesão miocárdica transoperatória e indicador de maior risco de disfunção ventricular após a cirurgia.

## ABSTRACT

**Background:** Use of cardiopulmonary bypass in cardiac surgery causes myocardial injury and cytokines release, which could be associated with left ventricular dysfunction post-operatively. However, temporal and sequential relationship of this possible association is not completely elucidated.

**Objectives:** To evaluate the sequential pattern of plasma levels of tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , soluble receptor I and II for TNF- $\alpha$  (TNF-RI, TNF-RII), interleukin (IL)-6 and troponin (Tn)-I during first 24 hours post-operatively of coronary bypass with cardiopulmonary bypass, and its association with left ventricular ejection fraction pre-operatively, 24 hours post-operatively and at day 7 post-operatively.

**Methods:** Nineteen patients who underwent coronary bypass with cardiopulmonary bypass with preserved left ventricular function pre-operatively and without post-operative complications were studied. Blood samples were collected immediately after anesthetic induction, 3, 8 and 24 hours post-cardiopulmonary bypass start, centrifuged, and plasma stored for posterior combined analysis by ELISA assays of biological markers of interest. All patients had radioisotopic left ventriculography performed pre-operatively, at 24 hours post-operatively and at day 7 post-operatively.

**Results:** According to ejection fraction at 24 hours post-operatively, patients were divided in two groups: group A (increased ejection fraction post-operatively, n=10) and group D (decreased ejection fraction post-operatively, n=9). There were no differences between the two groups regarding clinical variables such as: age, sex, weight, number of grafts, use of

mamary artery conducts, duration of cardiopulmonary bypass and aortic clamping. Plasma concentration of TNF- $\alpha$ , TNF-RI, TNF-RII, IL-6 e Tn-I showed significant differences ( $p < 0,001$ ) among different points in time. However, there were no significant differences in plasma levels of markers comparing both groups, but a trend was apparent for higher levels of TNF- $\alpha$  at 3 hours post-operatively in patients with decreased ejection fraction (group A= 12.7 pg/ml and group D= 25.3 pg/ml;  $p = 0.06$ ). Levels of Tn-I at 3 hours and 24 hours post-operatively correlated with duration of cardiopulmonary bypass ( $R = 0.46$  and  $0.5$ , respectively) and with aortic clamping time ( $R = 0.49$  and  $0.59$ , respectively). Levels of Tn-I at 8 hours post-operatively were inversely correlated with ejection fraction at 24 hours of post-operatively ( $R = -0.44$ ;  $p = 0.06$ ).

**Conclusions:** Coronary bypass using cardiopulmonary bypass is associated with elevated levels of TNF- $\alpha$ , TNF-RI, TNF-RII, IL-6 e Tn-I during 24 hours post-operatively. There was no defined association between levels of biological markers and ventricular dysfunction post-operatively, but a trend was apparent for increased levels of TNF- $\alpha$  in patients with decreased left ventricular ejection fraction at 24 hours post-operatively. Levels of Tn-I were positively correlated with duration of ischemia time, and inversely with left ventricular function at 24 hours post-operatively. These data suggest that Tn-I levels could be markers of myocardial transoperative injury and indicators of left ventricular dysfunction post-operatively.

## ABREVIATURAS

<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	fator de necrose tumoral- $\alpha$
<b>TNF-RI</b>	receptor I do fator de necrose tumoral
<b>TNF-RII</b>	receptor II do fator de necrose tumoral
<b>IL-6</b>	interleucina-6
<b>Tn-I</b>	troponina-I
<b>Tc-99m</b>	tecnécio-99m
<b>O<sub>2</sub></b>	oxigênio
<b>IL-8</b>	interleucina-8
<b>IL-1</b>	interleucina-1
<b>IL-2</b>	interleucina-2
<b>IL-10</b>	interleucina-10
<b>ICAM</b>	molécula de adesão intracelular
<b>NOs</b>	óxido nítrico-sintetase
<b>NO</b>	óxido nítrico
<b>CK-MB</b>	creatinino cinase fração MB
<b>LDH-1</b>	desidrogenase láctica tipo 1
<b>Tn-T</b>	troponina-T
<b>Tn-Tc</b>	troponina-T cardíaca
<b>EDTA</b>	ácido etilenodiamino tetra-acético
<b>ELISA</b>	ensaio enzimático imunoabsorvente
<b>IC-95</b>	intervalo de confiança 95%

NOTA: várias siglas foram mantidas conforme a língua inglesa por serem assim conhecidas universalmente.

**LISTA DE FIGURAS E TABELAS**

Figura 1 – Etapas da resposta inflamatória sistêmica à circulação extracorpórea	3
Figura 2 – Constituintes do sistema de amplificação humoral	6
Figura 3 – Papel das citocinas na resposta inflamatória	10
Figura 4 – Sequência de eventos no processo de movimento, adesão e migração dos neutrófilos na parede vascular	12
Figura 5 - Alterações promovidas pelo pinçamento aórtico durante a cirurgia cardíaca	18
Figura 6 – Comportamento da fração de ejeção nos grupos A (aumento da fração de ejeção em 24 horas) e D (diminuição da fração de ejeção em 24 horas)	35
Figura 7 – Valores plasmáticos da dosagem seqüencial de TNF- $\alpha$ em todos os pacientes	37
Figura 8 - Valores plasmáticos da dosagem seqüencial do receptor solúvel I do TNF- $\alpha$ em todos os pacientes	38
Figura 9 - Valores plasmáticos da dosagem seqüencial do receptor solúvel II do TNF- $\alpha$ em todos os pacientes	39
Figura 10 – Valores plasmáticos da dosagem seqüencial de interleucina-6 em todos os pacientes	40
Figura 11 – Valores séricos da dosagem seqüencial de troponina-I em todos os pacientes	41
Figura 12 - Valores plasmáticos da dosagem seqüencial de TNF- $\alpha$ nos grupos A (aumento da fração de ejeção em 24 horas) e D (diminuição da fração de ejeção em 24 horas)	43
Figura 13 - Valores plasmáticos da dosagem seqüencial do receptor solúvel I do TNF- $\alpha$ nos grupos A (aumento da fração de ejeção em 24 horas) e D (diminuição da fração de ejeção em 24 horas)	44

Figura 14 - Valores plasmáticos da dosagem seqüencial do receptor solúvel II do TNF- $\alpha$ nos grupos A (aumento da fração de ejeção em 24 horas) e D (diminuição da fração de ejeção em 24 horas)	45
Figura 15 - Valores plasmáticos da dosagem seqüencial de interleucina-6 nos grupos A (aumento da fração de ejeção em 24 horas) e D (diminuição da fração de ejeção em 24 horas)	46
Figura 16 - Valores séricos da dosagem seqüencial de troponina-I nos grupos A (aumento da fração de ejeção em 24 horas) e D (diminuição da fração de ejeção em 24 horas)	47
Figura 17 – Correlação entre os níveis séricos de troponina-I em 8 horas e o tempo de circulação extracorpórea	49
Figura 18 – Correlação entre os níveis séricos de troponina-I em 8 horas e o tempo de pinçamento aórtico	50
Figura 19 – Correlação entre os níveis séricos de troponina-I em 24 horas e o tempo de circulação extracorpórea	51
Figura 20 – Correlação entre os níveis séricos de troponina-I em 24 horas e o tempo de pinçamento aórtico	52
Figura 21 – Correlação entre os níveis séricos de troponina-I em 8 horas e a fração de ejeção em 24 horas	53
Tabela I – Características clínicas da amostra	34

## INTRODUÇÃO

### 1. RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA À CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

Apesar dos avanços diagnósticos e terapêuticos dos últimos anos, as doenças cardiovasculares ainda representam uma das principais causas de mortalidade nos países ocidentais (1). Estatísticas norte-americanas demonstram que mais de 15 milhões de norte-americanos apresentam algum tipo de doença cardíaca, sendo a doença coronariana a mais prevalente (1).

Desta forma, a cirurgia cardíaca tornou-se uma terapia freqüente. Dos 25 milhões de procedimentos cirúrgicos realizados anualmente nos Estados Unidos da América aproximadamente 500 mil são cirurgias para correção de problemas cardíacos, sendo em 80% das vezes, procedimentos de revascularização do miocárdio (1,2).

A consolidação dos métodos cirúrgicos como forma de tratamento das doenças cardíacas deve-se, em parte, ao desenvolvimento das técnicas de circulação extracorpórea que permitiram ao cirurgião manter a circulação e oxigenação dos pacientes enquanto o coração é parado, esvaziado e o reparo cirúrgico é realizado (3).

Embora as cirurgias cardíacas com circulação extracorpórea realizadas atualmente apresentem baixas taxas de mortalidade, elas provocam profundas alterações sistêmicas decorrentes da ativação imunoinflamatória promovida pela circulação extracorpórea. Além disso, é comum a ocorrência de disfunção ventricular transitória no pós-operatório imediato, cujo os mecanismos ainda não estão bem estabelecidos. É possível que estes fatores estejam associados e afetem o prognóstico pós-operatório (4,5).

A circulação extracorpórea determina uma série de condições anti-fisiológicas. O fluxo sanguíneo não pulsátil; o trauma dos elementos sanguíneos promovido pelas bombas de rolete, filtros e aspiradores; as substâncias anormais que são incorporadas ao sangue durante a perfusão; a hipotermia e, principalmente, a exposição do sangue a superfícies não endoteliais, determinam uma resposta inflamatória sistêmica que se manifesta clinicamente por disfunção pulmonar, renal, distúrbios da coagulação, suscetibilidade às infecções, alteração da permeabilidade vascular e acúmulo de líquidos no interstício, leucocitose,

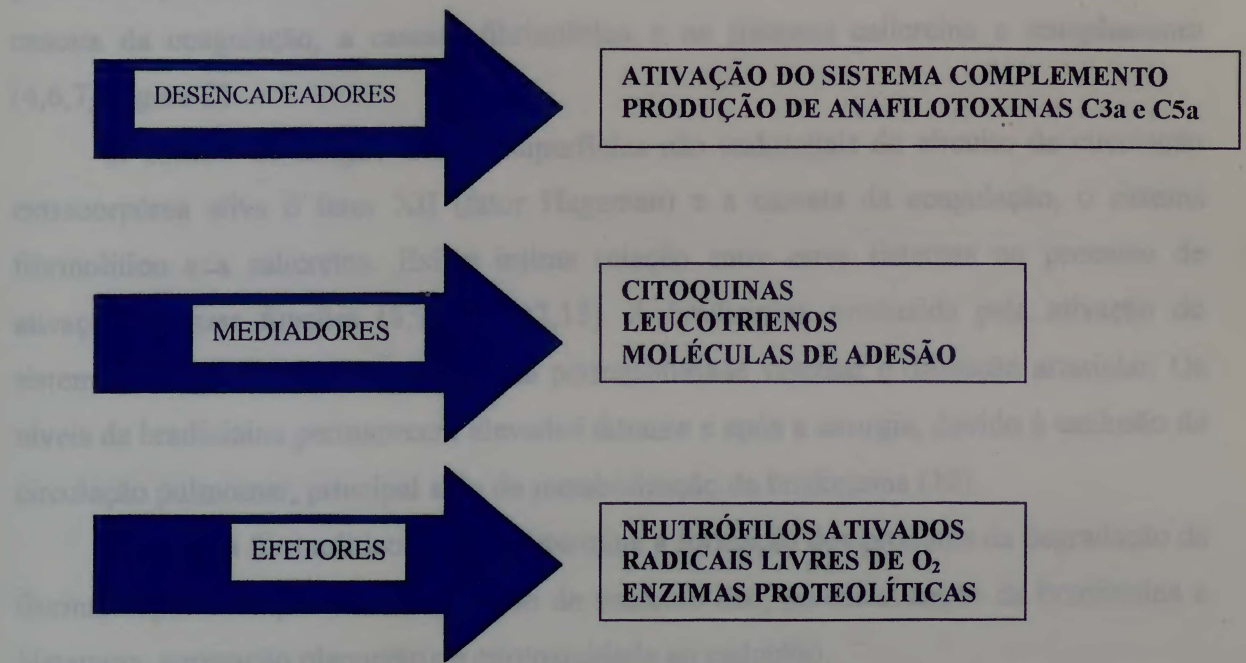


vasoconstrição e hemólise. Estas alterações fazem parte do que genericamente denomina-se de “ Síndrome pós-perfusão ” (4,6).

Este amplo espectro da cascata inflamatória provocada pela circulação extracorpórea pode ser dividido didaticamente em três partes. As substâncias que desencadeiam o processo inflamatório, como as anafilotoxinas derivadas da ativação do complemento; as substâncias tidas como mediadores, citocinas e moléculas de adesão; e os efetores da lesão celular, radicais livres de oxigênio ( $O_2$ ), enzimas proteolíticas e outros produtos tóxicos produzidos pelos neutrófilos ativados (figura 1).

### 1.1 Sistema de amplificação humoral

O sistema de amplificação humoral é um mecanismo sistêmico de proteínas plasmáticas que respondem a estímulos locais com auto-perpetuação e amplificação das respostas orgânicas (4). Trata-se de um componente essencial da resposta inflamatória sistêmica, promovida pela circulação extracorpórea, sendo constituído de quatro elementos-chaves a saber: a) a ativação do sistema complemento, b) a produção de anafilatoxinas, c) a produção de citocinas, d) a produção de leucotrienos e moléculas de adesão.



**Figura 1 – Etapas da resposta inflamatória sistêmica à circulação extracorpórea.**

## 1.1 Sistema de amplificação humoral

O sistema de amplificação humoral é um complexo sistema de proteínas plasmáticas que respondem a estímulos locais com auto-perpetuação e amplificação das reações orgânicas (4). Trata-se de um componente fundamental da resposta inflamatória sistêmica promovida pela circulação extracorpórea, sendo constituído de quatro elementos básicos: a cascata da coagulação, a cascata fibrinolítica e os sistemas caliceína e complemento (4,6,7).(figura 2)

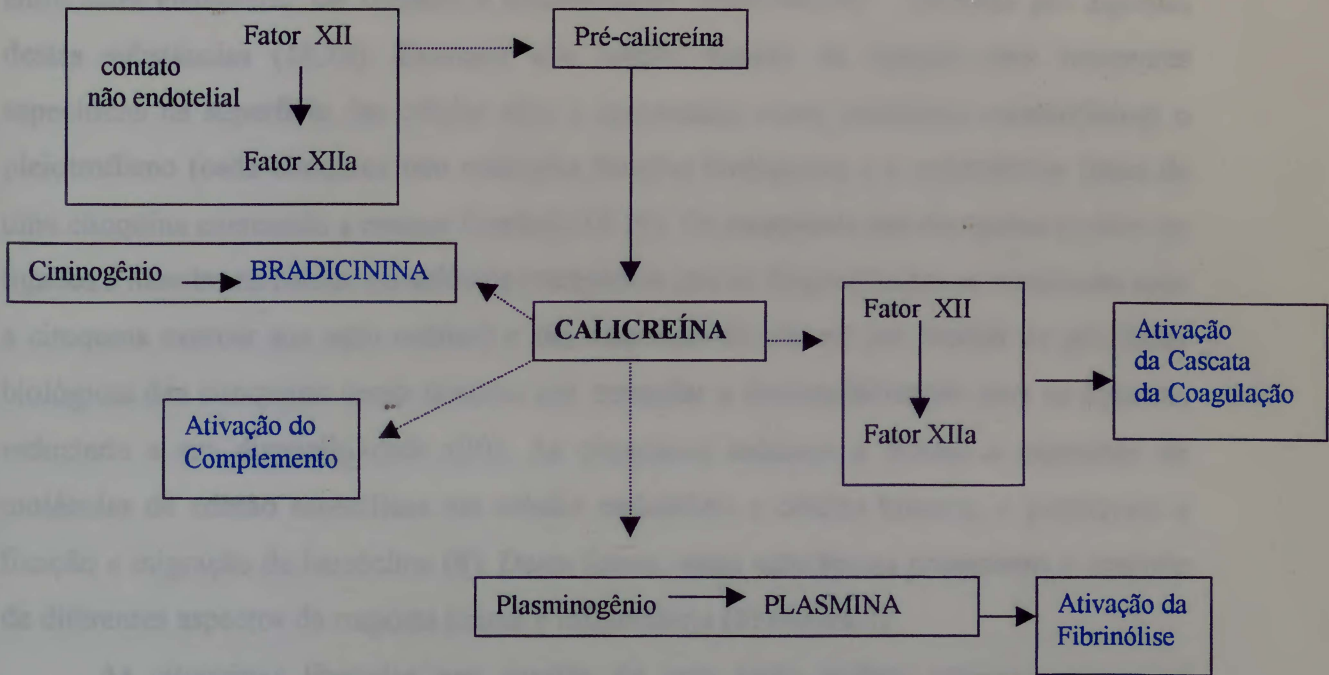
O contato do sangue com as superfícies não endoteliais do circuito de circulação extracorpórea ativa o fator XII (fator Hageman) e a cascata da coagulação, o sistema fibrinolítico e a caliceína. Existe íntima relação entre estes sistemas no processo de ativação de suas funções (8,9,10,11,12,13). A bradicinina produzida pela ativação do sistema caliceína promove aumento da permeabilidade vascular e dilatação arteriolar. Os níveis de bradicinina permanecem elevados durante e após a cirurgia, devido à exclusão da circulação pulmonar, principal sítio de metabolização da bradicinina (13).

O sistema fibrinolítico ativado determina a formação dos produtos da degradação da fibrina, capazes de promover contração do músculo liso, potencialização da bradicinina e histamina, agregação plaquetária e citotoxicidade ao endotélio.

O sistema complemento é tido como o principal responsável pelo início da resposta inflamatória sistêmica à circulação extracorpórea (6,14). Trata-se de um grupo de glicoproteínas circulantes que respondem às lesões traumáticas, infecções ou exposição do organismo a corpos estranhos (4). Sua ativação pode ocorrer em procedimentos com ou sem circulação extracorpórea, porém o uso deste artifício está associado a elevação expressiva das anafilotoxinas C3a e C5a, principalmente pela via alternativa. A liberação de C5a provoca estímulo na produção de citocinas e ativação dos neutrófilos, determinando vasoconstrição, aumento da permeabilidade vascular e acúmulo de água no interstício (6,9,14).

O uso de protamina em cirurgias cardíacas, para antagonizar o efeito anticoagulante da heparina, também pode causar ativação do complemento pela via clássica, levando ao aumento de C4a, C3a e C5a. Este fato pode explicar as alterações hemodinâmicas que eventualmente ocorrem após o seu uso (6,15).

Os níveis de séricos de C3a após à circulação extracorpórea têm sido relacionados ao prejuízo pós-operatório da hemostasia e das funções renal, cardíaca e pulmonar (6,16). Estudos experimentais também têm evidenciado os efeitos depressores da função ventricular após a administração intracoronariana de C5a (17).



**Figura 2- Constituintes do sistema de amplificação humoral**

Modificado de Verstraete M. *Clinical application of inhibitors of fibrinolysis. Drugs* 1985;29:236-261

## 1.2 Citoquinas

As citoquinas são proteínas solúveis produzidas por linfócitos, monócitos, macrófagos, fibroblastos e outras células, com a finalidade de estabelecer a comunicação entre estes elementos, daí também a denominação “interleucinas” recebida por algumas destas substâncias (18,19). Exercem sua função através da ligação com receptores específicos na superfície das células alvo e apresentam como principais características o pleiotrofismo (cada citoquina tem múltiplas funções biológicas) e a redundância (mais de uma citoquina exercendo a mesma função) (18,19). Os receptores das citoquinas podem ser ligados à membrana celular ou solúveis (receptores que se desprenderem na circulação após a citoquina exercer sua ação celular) e são responsáveis não só por mediar as atividades biológicas das citoquinas como também por controlar a dessensibilização para os ligantes, reduzindo a sua disponibilidade (20). As citoquinas induzem a síntese e expressão de moléculas de adesão específicas em células endoteliais e células brancas, e promovem a fixação e migração de leucócitos (8). Desta forma, estas substâncias promovem o controle de diferentes aspectos da resposta imune e inflamatória (8).(figura 3)

As citoquinas liberadas por ocasião de uma lesão podem promover respostas benéficas, tais como, o estímulo à função antimicrobiana, cicatrização da ferida e mobilização de substratos armazenados (21). Entretanto, sua produção exagerada e prolongada pode causar efeitos deletérios, como os observados durante a sepse e na caquexia por doenças crônicas (21).

Como qualquer lesão, à agressão cirúrgica também promove uma resposta inflamatória. Alguns estudos têm demonstrado o aumento das citoquinas no pós-operatório de diferentes cirurgias, sendo mais elevado quanto maior o porte e duração da cirurgia (22,23). Da mesma forma, várias citoquinas foram relacionadas a resposta inflamatória após a circulação extracorpórea. Entre elas a interleucina-8 (IL-8), interleucina-1 (IL-1), interleucina-2 (IL-2), interleucina-10 (IL-10), interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (9,24,25,26,27,28,29,30).

O TNF- $\alpha$ , também denominado caquetina, tem seu nome derivado da capacidade de produzir necrose hemorrágica em tumores e de sua associação com a caquexia nas doenças crônicas (31,32). Trata-se de um mediador primário na patogênese da lesão tecidual e

inflamatória em pacientes submetidos à circulação extracorpórea, visto que se altera de forma aguda em resposta ao estresse (6,8,9). Normalmente apresenta um aumento 2 horas após o início da circulação extracorpórea, pico em 4 horas e permanece elevada por mais de 24 horas após a cirurgia (31,33).

A IL-6 determina uma “resposta da fase aguda” que se caracteriza por febre, taquicardia, leucocitose, alteração da permeabilidade vascular, catabolismo, síntese de proteínas hepáticas da fase aguda e provavelmente depressão miocárdica (31,33). Graças a esta resposta fisiológica aguda à lesão tecidual, a elevação sérica da IL-6 tem sido associada a morbidade e mortalidade após trauma, queimaduras e cirurgias eletivas (42,43,44).

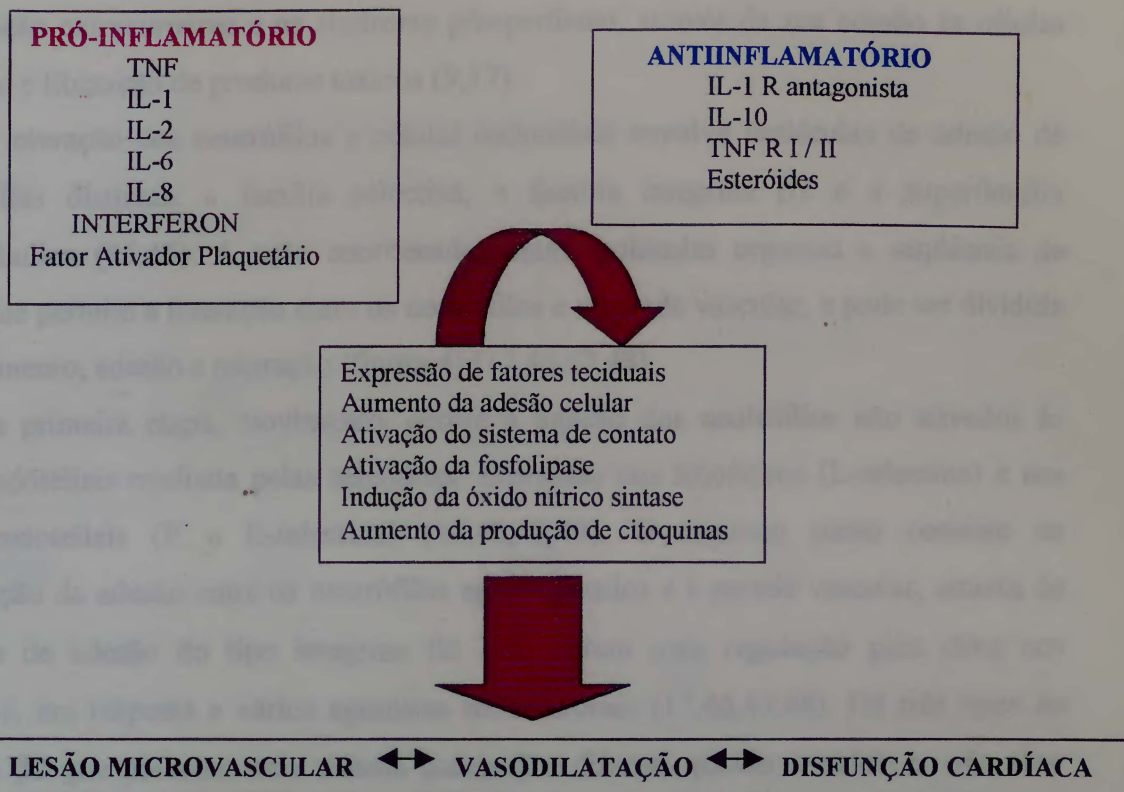


Figura 3 – Papel das citocinas na resposta inflamatória.

Williams G, Giroir BP. Regulation of cytokine gene expression: tumor necrosis factor, interleukin-1, and the emerging biology of cytokine receptors. *New Horizons* 1995;3:276-287.



### 1.3 Interação entre neutrófilos e células endoteliais

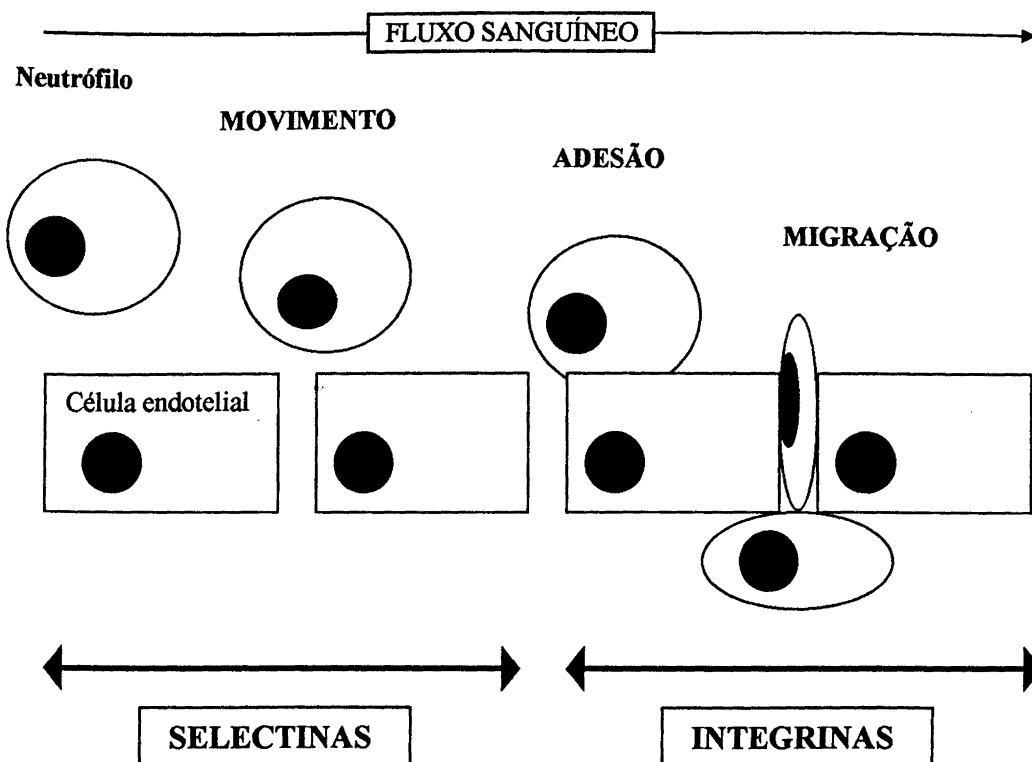
Os neutrófilos ativados possuem um papel chave na resposta inflamatória sistêmica da circulação extracorpórea e na síndrome pós-perfusão, através da sua adesão às células endoteliais e liberação de produtos tóxicos (9,17).

A interação dos neutrófilos e células endoteliais envolve moléculas de adesão de três famílias distintas: a família selectina, a família integrina  $\beta 2$  e a superfamília imunoglobulina (45,46). A ação coordenada destas moléculas organiza a seqüência de eventos que permite a interação entre os neutrófilos e a parede vascular, e pode ser dividida em: movimento, adesão e migração (figura 4) (17,46,47,48).

Na primeira etapa, movimento, ocorre a ligação dos neutrófilos não ativados às células endoteliais mediada pelas selectinas, expressas nos leucócitos (L-selectina) e nas células endoteliais (P e E-selectina) (17,46,48,49). O segundo passo consiste na consolidação da adesão entre os neutrófilos agora ativados e a parede vascular, através de moléculas de adesão do tipo integrina  $\beta 2$  que sofrem uma regulação para cima nos neutrófilos, em resposta a vários agonistas inflamatórios (17,46,47,48). Há três tipos de integrinas  $\beta 2$  que possuem uma mesma cadeia  $\beta$  e diferem quanto à cadeia  $\alpha$ , são elas: CD11a/CD18, CD11b/CD18 e CD11c/CD18. Estas moléculas ligam-se com moléculas de adesão intracelular (ICAM), principalmente do tipo I, cuja expressão é estimulada pelas citocinas (9,17,48). A expressão de moléculas de ICAM-I é considerada um passo obrigatório na lesão celular promovida pelos leucócitos polimorfonucleados (17,46,48).

A ligação CD11b/CD18-ICAM-1 é considerada a chave do aprisionamento dos neutrófilos ativados à parede vascular (9,17,48,50,51). Esta interação ativa a liberação de produtos tóxicos produzidos pelos neutrófilos, entre eles, radicais livres de  $O_2$  e enzimas proteolíticas como elastase e mieloperoxidase. Ocorre também a formação de leucotrienos, que promovem quimiotaxia atraindo células inflamatórias para o local, perpetuando o processo (9).

A terceira etapa do processo corresponde à migração transendotelial dos neutrófilos que, uma vez aderidos à parede vascular, não podem retornar à corrente sanguínea. Este processo de passagem para o interstício parece ser regulado pela IL-8 (17,46,47).



**Figura 4 - Seqüência de eventos no processo de movimento, adesão e migração dos neutrófilos na parede vascular.**

## 2. DISFUNÇÃO VENTRICULAR APÓS CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

A lesão miocárdica que ocorre durante a cirurgia cardíaca deve-se a dois mecanismos básicos: hipóxia e/ou isquemia. A isquemia provavelmente determina um comprometimento maior do miocárdio pois combina a redução na oferta de O<sub>2</sub> (hipóxia) e suspensão da remoção de inibidores metabólicos que comprometem a produção de fosfatos de alta energia (52,53).

Estas duas formas de agressão levam a danos metabólicos e estruturais de intensidade variável, que podem explicar a ocorrência, no pós-operatório, de síndrome de baixo débito cardíaco, arritmias ou uma reversível e transitória disfunção dos mecanismos celulares de produção de energia e excitação-contração. Esta disfunção pós-isquêmica de um miocárdio viável é conhecida como miocárdio atordado (52,53).

A isquemia promovida pelo pinçamento aórtico durante a cirurgia cardíaca desencadeia uma complexa cascata de eventos que comprometem a produção de fosfatos de alta energia e a homeostasia do cálcio, conforme demonstra a figura 5. Durante este período a principal origem dos fosfatos de alta energia passa ser a produção anaeróbica de adenosina trifosfato e o fosfato de creatina, que declinam rapidamente. Desta forma, a parada isquêmica altera a contratilidade miocárdica provocando inicialmente uma rápida redução no desenvolvimento ativo de tensão miocárdica, subsequentemente ocorre aumento na tensão de repouso até um nível de platô. Por fim, se a isquemia se prolongar ocorre uma grave contratura miocárdica. Estas alterações progressivas da contratilidade estão associadas com o excessivo consumo de fosfatos de alta energia e acúmulo de cálcio intracelular. A gravidade e duração destas alterações pós-isquêmicas dependem da extensão e intensidade da isquemia, bem como, das condições do miocárdio antes da agressão (52,53,54).

Estudos experimentais demonstraram que a oclusão coronariana por curtos períodos não está associada ao desenvolvimento de necrose miocárdica, porém após a liberação da oclusão a função miocárdica permanece deprimida temporariamente, havendo redução transitória da função sistólica e da complacência diastólica (54). Estudos avaliando a função ventricular no pós-operatório imediato de cirurgias cardíacas também têm demonstrado uma redução da função ventricular. Mangano estudou 22 pacientes

submetidos à revascularização miocárdica com circulação extracorpórea, demonstrando que pacientes com boa função ventricular prévia à cirurgia (fração de ejeção superior a 55%), apresentam piora da função ventricular nas primeiras horas de pós-operatório, com desempenho das curvas de função ventricular direita e esquerda de 60 a 75% dos valores de controle. Entretanto, em 4 horas 90% desta função é recuperada. Já pacientes com fração de ejeção inferior a 45% apresentam uma disfunção mais acentuada (curvas de função ventricular direita e esquerda com desempenho de 30 a 40% dos valores de controle) e recuperação mais lenta, sendo que apenas 60% da função ventricular prévia é recuperada em 24 horas (55). Breisblatt e colaboradores avaliaram as medidas hemodinâmicas e a ventriculografia radioisotópica em 24 pacientes submetidos à revascularização miocárdica com circulação extracorpórea sem complicações no pós-operatório. O pico da depressão ventricular ocorreu entre 2 e 6 horas após a circulação extracorpórea (média de 4 horas). A queda da função ventricular esquerda foi significativa. Em onze pacientes foi observado uma hipocinesia difusa e movimento septal paradoxal. A recuperação total da depressão ventricular ocorreu em 24 a 48 horas (56).

Outros estudos também demonstraram um pico de depressão ventricular nas primeiras 6 horas de pós-operatório com recuperação aos valores pré-operatórios nas primeiras 24 a 48 horas, podendo inclusive alcançar valores superiores ao pré-operatório em alguns dias ou semanas após a cirurgia. Este fato provavelmente é devido a recuperação de áreas anteriormente isquêmicas (57,58,59,60,61,62).

## **2.1 Disfunção ventricular e citoquinas**

Embora o pulmão seja classicamente visto como o órgão mais afetado pela resposta inflamatória sistêmica da circulação extracorpórea, tem havido um crescente interesse no estudo dos efeitos adversos causados pelos mediadores inflamatórios sobre a função miocárdica (9).

Todas as alterações biológicas citadas anteriormente na resposta inflamatória à circulação extracorpórea e evidenciadas no sangue periférico podem também ser observadas ao nível do miocárdio. O sequestro de neutrófilos no miocárdio de pacientes submetidos à revascularização e a presença de mediadores inflamatórios no sangue retirado

do seio coronariano destes pacientes sugere que estes fatores devam originar-se do próprio miocárdio submetido à lesão (9,63).

A associação das citocinas com a isquemia e disfunção miocárdica têm sido evidenciada em várias situações, tais como na insuficiência cardíaca, sepse, infarto agudo do miocárdio e rejeição aguda de enxerto cardíaco (64,65,66,67,68). Alguns estudos têm procurado estabelecer a relação entre estes mediadores liberados durante a circulação extracorpórea e o prejuízo na função ventricular pós-operatória (24,29,69,70).

Henein e colaboradores demonstraram a associação entre a piora da função ventricular (quantificada por ecocardiografia transesofágica perioperatória) e dos episódios de isquemia miocárdica (avaliados por registro eletrocardiográfico de 24 horas) com a elevação dos níveis séricos de IL-6 e IL-8 em 22 pacientes com boa função ventricular pré-operatória submetidos a cirurgia de revascularização miocárdica com circulação extracorpórea em hipotermia moderada (26 a 28°C) (70). Os pacientes com redução da função ventricular no pós-operatório imediato (primeiros 30 min após o término da circulação extracorpórea) apresentaram níveis de IL-6, da primeira hora após circulação extracorpórea, quase 10 vezes maior que aqueles pacientes cuja contratilidade miocárdica não foi afetada (70). Mocek e colaboradores também relataram uma correlação significativa entre os níveis de IL-6 e a ocorrência de síndrome de baixo débito cardíaco no pós-operatório de cirurgias cardíacas pediátricas (71). Velthuis e colaboradores demonstraram que pacientes idosos (idade superior a 65 anos) apresentam maiores níveis de TNF- $\alpha$  após à circulação extracorpórea quando comparados a pacientes mais jovens (idade inferior a 55 anos), e que estes níveis de TNF- $\alpha$  estão associados a um menor índice de trabalho do ventrículo esquerdo nestes pacientes (72). Deng e colaboradores compararam o perfil inflamatório após a circulação extracorpórea de pacientes com fração de ejeção superior a 55% e inferior a 45% no pré-operatório, obtendo níveis pré-operatórios mais elevados de IL-2 e TNF- $\alpha$  em pacientes com menor fração de ejeção. Do mesmo modo, observaram no grupo de pacientes com menor fração de ejeção maiores níveis de IL-2, receptor solúvel da IL-2, IL-6 e TNF- $\alpha$  após a cirurgia. A IL-6 correlacionou-se com o tempo de circulação extracorpórea, dose de inotrópicos e pressão média e de oclusão da artéria pulmonar. Também observaram maiores níveis plasmáticos de IL-6 nos pacientes com complicações.

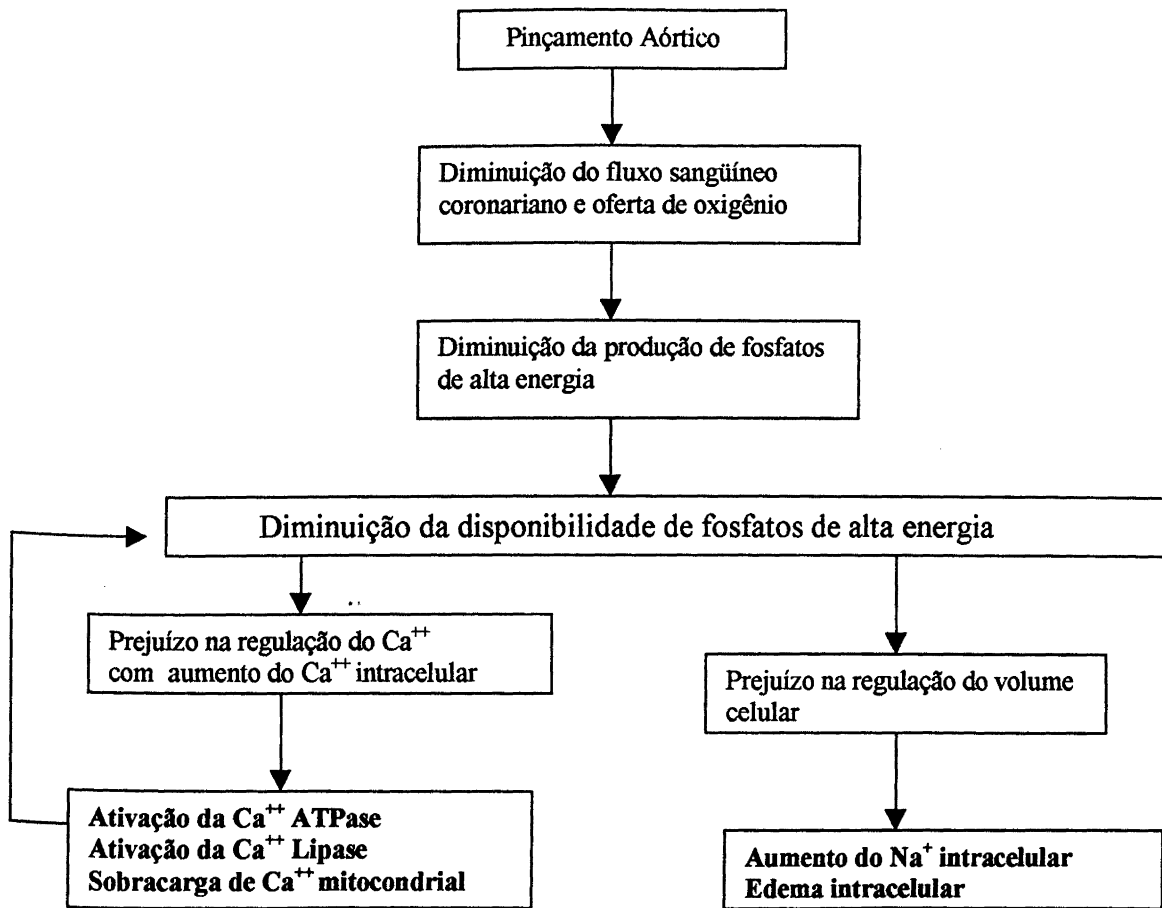
Entretanto, estes achados não permitem concluir se estas alterações hemodinâmicas são uma causa ou uma consequência da liberação de citocinas (69).

Outros autores não demonstraram correlação entre o aumento das interleucinas e as alterações hemodinâmicas após a circulação extracorpórea (24,29). Talvez esta falta de correlação deva-se ao fato da função ventricular não ter sido avaliada diretamente ou sua avaliação ter sido realizada fora do intervalo de maior depressão miocárdica pós-operatória. Outro provável fator é o de não terem sido dosados, por exemplo, os receptores solúveis das interleucinas, que podem fornecer informações mais consistentes do papel das citocinas (9,24,29).

O exato mecanismo pelo qual as citocinas interferem na função cardíaca ainda não está completamente estabelecido. Evidências recentes demonstram que o TNF- $\alpha$  encontra-se aumentado no sangue de pacientes com insuficiência cardíaca grave, da mesma forma que seus receptores solúveis (41,73). O TNF- $\alpha$  induziria a produção de óxido nítrico-sintetase (NOs) em vários tipos celulares, tendo como resultado a elevação dos níveis de óxido nítrico (NO). A ativação da NOs parece modular a resposta dos miócitos à estimulação de receptores muscarínicos e beta-adrenérgicos, causando uma redução na resposta contrátil aos agonistas beta-adrenérgicos (74,75,76,77,78). As consequências deste efeito seriam vasodilatação periférica e uma deletéria depressão cardíaca devido ao efeito inotrópico negativo do óxido nítrico. Além disso, o TNF- $\alpha$  pode promover apoptose ao interagir com os receptores de membrana, participando da deterioração progressiva da função cardíaca (41). A função dos receptores solúveis do TNF- $\alpha$  ainda é desconhecida, porém eles parecem ser melhores marcadores da atividade local do TNF- $\alpha$ . Também podem ter implicações prognósticas, visto que o receptor solúvel II do TNF- $\alpha$  foi um forte preditor de mortalidade precoce em pacientes com insuficiência cardíaca (41,79,80). Além disso, estudos experimentais também tem demonstrado que a IL-6 pode exercer efeitos inotrópicos negativos mediados pelo NO de forma semelhante ao TNF- $\alpha$  (81,82).

Considerando que estes mediadores inflamatórios possam contribuir para a diminuição da contratilidade miocárdica após a cirurgia cardíaca abre-se uma nova fronteira de intervenções para diminuir a resposta inflamatória à circulação extracorpórea e assim melhorar a função ventricular no pós-operatório. Neste sentido, medidas como o uso de glicocorticóides, pentoxifilina, superóxido dismutase, técnicas de hemofiltração e

depleção de leucócitos podem vir a ser confirmadas como formas de reduzir a disfunção ventricular pós-operatória através de uma redução na liberação de citocinas ou de seus efeitos. Da mesma forma, o uso de anticorpos monoclonais específicos para estas citocinas pró-inflamatórias ou moléculas de adesão poderão ser incorporados aos métodos de proteção miocárdica (6,33,83,84,85,86,87,88,89,90,91,92,93).



**Figura 5 – Alterações promovidas pelo pinçamento aórtico durante a cirurgia cardíaca.**

*Lell WA. Myocardial protection during cardiopulmonary bypass. In: Kaplan JA. Cardiac Anesthesia. WB Saunders Company, Philadelphia, 1993;1030-1057.*



### 3. LESÃO MIOCÁRDICA EM CIRURGIA CARDÍACA

A maioria dos pacientes submetidos a cirurgia cardíaca apresenta algum grau de lesão miocárdica. A incidência e extensão desta lesão varia de acordo com o método diagnóstico utilizado e influencia os resultados pós-operatórios precoces e tardios (52).

A lesão miocárdica pode ocorrer em qualquer momento do período perioperatório, porém é mais provável que aconteça se as técnicas de proteção miocárdica durante a circulação extracorpórea (parada cardíaca em diástole, hipotermia e aspiração ventricular) forem inadequadas (52). Assim, predis põem ao dano miocárdico os seguintes fatores: a composição da solução cardioplégica, a fibrilação ventricular persistente, inadequada perfusão miocárdica, distensão e colapso ventricular, embolia coronariana, tempo de pinçamento aórtico e a lesão de reperfusão (52).

Para determinação da presença e extensão desta lesão é necessário o uso de marcadores de alta sensibilidade e especificidade para o dano miocárdico. As características do marcador ideal da lesão miocárdica devem ser: apresentar alta concentração no miocárdio, não ser encontrado em outros tecidos ou em condições patológicas, ser liberado rápida e completamente após a lesão miocárdica, ser liberado em proporção direta à extensão da lesão e por último, persistir elevado no plasma por algumas horas para confirmar o diagnóstico, mas não por tempo exagerado que não permita que uma nova lesão seja reconhecida (94).

O problema dos marcadores tradicionais de lesão miocárdica não está em sua sensibilidade, mas sim em sua especificidade. Um exemplo disto é o fato da creatinina cinase fração MB (CK-MB) estar presente em baixas concentrações no músculo esquelético e sofrer elevação em casos de rabdomiólise. O índice de CK-MB (CK-MB dividida pela CK total) produz interpretações enganosas quando o dano muscular periférico e cardíaco coexistem, como na cirurgia cardíaca. Um aumento da isoenzima desidrogenase láctica tipo 1 (LDH 1) é característica do dano cardíaco, mas a hemólise e a necrose cortical renal também produzem esse resultado (95).

Entre os mais recentes e promissores marcadores da lesão miocárdica encontram-se as troponinas. As troponinas são um complexo de proteínas presentes no músculo estriado e regulam a interação dos filamentos de actina e miosina, mediados pelo cálcio. A troponina T (Tn-T) liga-se ao complexo tropomiosina, a troponina I (Tn-I) inibe a ligação dos

filamentos actina e miosina e a troponina C liga-se ao cálcio, induzindo uma alteração conformacional e revertendo a atividade inibitória da troponina I, permitindo a interação entre a actina e miosina (94).

A Tn-I não é expressa pelo músculo esquelético. Desta forma, a presença de Tn-I na circulação, acima de limites mínimos, é altamente específico para a lesão miocárdica. Este fato permite diferenciar as elevações de CK-MB decorrentes da lesão do músculo esquelético daquelas devido à lesão do músculo cardíaco (96). Não ocorre elevação nos níveis de Tn-I em maratonistas, pacientes com doença muscular aguda ou crônica e pacientes com doença renal, exceto se houver lesão cardíaca associada (96,97,98,99,100).

Diferente da Tn-I, múltiplas isoformas de Tn-T cardíaca (Tn-Tc) têm sido encontradas, algumas expressas no músculo esquelético (101). Elevações da Tn-Tc podem ser encontradas em pacientes com doença muscular crônica e insuficiência renal crônica, sem evidência de lesão miocárdica, diminuindo sua especificidade (100,102,103,104,105). Apesar dos testes de segunda geração para dosagem de Tn-Tc apresentarem um melhor desempenho ainda ocorrem elevações nos casos citados anteriormente (106).

Protocolos recentes criados para o reconhecimento da lesão miocárdica tem proposto a associação de testes. Assim, seriam utilizados testes que sofrem alteração precoce, como a dosagem de CK-MB e a mioglobina, associados a dosagem de Tn-I que apresenta alta cardioespecificidade e prolongada elevação. Com isto seria possível contrabalançar a menor especificidade dos testes de alteração precoce (CK-MB e mioglobina), que podem ser alterados pelo dano muscular, com a longa latência de alteração da Tn-I (100,107,108,109).

A dosagem das troponinas cardíacas tem sido utilizada para diversas finalidades. A Tn-Tc tem apresentado um valor prognóstico significativo nas síndromes coronarianas agudas e infarto agudo do miocárdio. Em uma metanálise de 1386 pacientes, valores anormais de Tn-Tc foram associados a uma razão de chances de 4,7 (IC 95% 2,6-8,4) para morte de causa cardíaca e infarto agudo do miocárdio em pacientes com angina instável no intervalo de 6 meses (110). Os resultados obtidos com a dosagem de Tn-I são semelhantes, com uma razão de chances de 4,8 (IC 95% 2,3-9,9) para a mesma avaliação (111).

A Tn-I mostrou-se sensível e específica no diagnóstico de infarto agudo do miocárdio perioperatório em pacientes submetidos a cirurgia vascular (112). Nos pacientes

submetidos à cirurgia cardíaca, valores de Tn-I abaixo de 10 ng/ml são normalmente encontrados devido ao manuseio cardíaco e a parada cardíaca. Entretanto, valores mais altos tem mostrado correlação com prejuízo da função ventricular e infarto perioperatório (111).

Mair e colaboradores estudaram 26 pacientes submetidos à revascularização miocárdica de forma eletiva. Destes, 22 não apresentaram infarto agudo do miocárdio, mas tiveram elevação dos níveis de Tn-I com pico ocorrendo em média 8 horas após a liberação do pinçamento aórtico. Quatro pacientes apresentaram critérios eletrocardiográficos, ecocardiográficos e enzimáticos compatíveis com infarto agudo do miocárdio. Nestes, um apresentou infarto com onda Q (valor pico de Tn-I de aproximadamente 30 mcg/l) e três apresentaram infarto agudo do miocárdio não Q (valores de pico de Tn-I em torno de 5 mcg/l). Estes autores concluem que após cirurgia de revascularização miocárdica a presença de picos de Tn-I maiores que 3,7 mcg/l e concentrações superiores a 3,1 mcg/l em 12 horas ou a 2,5 mcg/l em 24 horas apresentam alta probabilidade de estarem associados ao infarto (113). Sadony e colaboradores avaliando 119 pacientes submetidos à revascularização miocárdica estabeleceram valores de referência de Tn-I para o diagnóstico de infarto no pós-operatório. O infarto agudo do miocárdio foi definido por critérios eletrocardiográficos, ecocardiográficos e enzimáticos (exceto Tn-I). Valores de Tn-I em 24 horas superiores a 11,6 ng/ml apresentaram sensibilidade de 100% e especificidade de 97% para o diagnóstico de infarto agudo do miocárdio (114). Prellwitz e colaboradores relataram que de 14 pacientes acompanhados após revascularização miocárdica por 6 a 48 horas, aproximadamente 70% dos pacientes com Tn-I superior à 1 mcg/l tinham infarto agudo do miocárdio (115).

Etievent e colaboradores demonstraram que a elevação da Tn-I é maior nas cirurgias de revascularização miocárdica quando comparadas as cirurgias de troca valvular. Neste estudo também se observou associação entre os níveis de Tn-I e o tempo de pinçamento aórtico, sugerindo uma relação entre a liberação de Tn-I e a duração da isquemia (116). Outros estudos clínicos e experimentais também estabeleceram esta relação (117,118,119).

A efetividade das técnicas de proteção miocárdica também podem ser avaliadas através da dosagem de Tn-I e/ou Tn-T. Vários trabalhos têm utilizado estes marcadores bioquímicos procurando estabelecer o melhor tipo de cardioplegia ou forma de

administração capaz de proteger o coração durante a parada cardíaca (120,121,122,123). Entretanto, poucos estudos correlacionam os valores pós-operatórios destes marcadores e os resultados clínicos.

Assim como nas síndromes coronarianas e no infarto agudo do miocárdio, existem várias tentativas de utilizar a Tn-I como valor prognóstico em diferentes situações clínicas. Metzler e colaboradores avaliaram a relação entre os níveis séricos de Tn-T e Tn-I e a ocorrência de eventos adversos perioperatórios em 67 pacientes de risco submetidos a cirurgias eletivas não cardíacas. Estabeleceram que pacientes com valor de Tn-T superior à 0,6 ng/ml no pós-operatório apresentam um valor preditivo positivo para resultados adversos de 87,5% e valor preditivo negativo de 98% (124). Riou e colaboradores avaliando 100 pacientes com morte cerebral determinaram que níveis elevados de Tn-T (superior a 0,5 mcg/l) estão associados a uma redução na fração de ejeção do ventrículo esquerdo (sensibilidade 100% e especificidade 84%) nestes doadores de órgãos (125). Hirsch e colaboradores observaram uma correlação significativa entre os níveis de Tn-I no pós-operatório imediato e os tempos de circulação extracorpórea e pinçamento aórtico, bem como com a necessidade de suporte inotrópico, tempo de intubação traqueal e de permanência na unidade de terapia intensiva após cirurgias para correção de defeitos cardíacos congênitos não complexos (126). Através destes estudos, podemos concluir, que a dosagem de troponina-I no pós-operatório pode correlacionar-se com os resultados clínicos de diferentes cirurgias.

Talvez o uso de marcadores bioquímicos altamente sensíveis e específicos como as troponinas poderão ajudar a estratificar o risco pré e pós-operatório dos pacientes submetidos à cirurgia cardíaca, de forma similar a estratificação de risco para as síndromes coronarianas agudas ou sepse, permitindo a identificação de grupos de risco e a intervenção precoce naqueles de maior morbidade e mortalidade.

Em suma, alguns estudos demonstram que as citocinas se elevam no sangue após as cirurgias cardíacas e que esta elevação pode estar associada a disfunção ventricular transitória, comum no pós-operatório deste tipo de cirurgia. O presente estudo visou determinar o perfil pós-operatório das citocinas, especialmente do TNF- $\alpha$  cujo comportamento é ainda controverso, bem como o comportamento de seus receptores solúveis cujo os relatos ainda são escassos na literatura. Visou também determinar a

ocorrência da disfunção ventricular pós-operatória e estudar sua associação com as citocinas e com o grau de lesão miocárdica, quantificado pela troponina-I. É importante salientar que ainda não dispomos de descrições na literatura da associação entre os níveis séricos de troponina-I após a revascularização miocárdica e o comportamento da fração de ejeção. Desta forma, procurou-se estabelecer um maior entendimento do papel destes marcadores biológicos após a cirurgia de revascularização miocárdica no processo de disfunção miocárdica pós-operatória.

## **HIPÓTESE**

As citocinas liberadas pela resposta imunoinflamatória à circulação extracorpórea e a troponina-I, um marcador da lesão miocárdica, podem estar associadas ao grau de disfunção ventricular pós-operatória observada em pacientes submetidos à revascularização do miocárdio.

## OBJETIVOS

### Objetivo geral:

Determinar o nível sérico de citocinas e de troponina-I em pacientes submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica com circulação extracorpórea e estabelecer a associação destes marcadores biológicos com a função ventricular esquerda no pós-operatório.

### Objetivos específicos:

- 1- Determinar a fração de ejeção do ventrículo esquerdo no pré-operatório através de ventriculografia radioisotópica e compará-la, através do mesmo método, no pós-operatório imediato (24 horas após o início da cirurgia ) e no sétimo dia pós-operatório.
- 2- Determinar os níveis plasmáticos do TNF- $\alpha$ , TNF-RI, TNF-RII e IL-6 no sangue periférico após a indução anestésica, 3, 8 e 24 horas após o início da circulação extracorpórea.
- 3- Determinar o nível sérico de Tn-I no sangue periférico após a indução anestésica, 3, 8 e 24 horas após o início da circulação extracorpórea.
- 4- Estabelecer a associação entre os níveis séricos de citocinas e Tn-I e a fração de ejeção do ventrículo esquerdo no pós-operatório.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. População em estudo

Foram estudados 19 pacientes submetidos à cirurgia eletiva de revascularização miocárdica com circulação extracorpórea realizadas no bloco cirúrgico do Hospital de Clínicas de Porto Alegre no período de fevereiro de 1997 à janeiro de 1998.

### 2. Delineamento: Estudo transversal

### 3. Seleção da amostra

#### 3.1 Critérios de inclusão:

Foram estudados pacientes submetidos à cirurgia eletiva de revascularização miocárdica com circulação extracorpórea, após fornecerem seu consentimento verbal e por escrito, e que não se enquadrassem nos critérios de exclusão abaixo especificados.

#### 3.2 Critérios de exclusão pré-operatórios:

Foram excluídos do estudo pacientes apresentando alguma das seguintes condições:

- pacientes submetidos à circulação extracorpórea previamente, independente do motivo
- história de infarto agudo do miocárdio há menos de 3 meses
- procedimento cardíaco concomitante (troca de válvula, correção de defeitos cardíacos)
- portadores de insuficiência renal
- portadores de síndromes de imunodeficiência
- corticoterapia crônica ou perioperatória
- pacientes com fração de ejeção inferior a 40%
- portadores de infecção ativa
- portadores de angina instável
- pacientes com insuficiência cardíaca classes III e IV do NYHA



### **3.3 Critérios de exclusão pós-operatórios:**

Foram também excluídos os pacientes que apresentaram intercorrências clínicas no pós-operatório, capazes de alterar as citoquinas e/ou troponina-I, independente dos fatores pós-operatórios habituais, tais como:

- Infarto agudo do miocárdio diagnosticado clinicamente através de achados eletrocardiográficos (presença de ondas Q novas e persistentes) e/ou alterações enzimáticas (CKMB  $\geq 75$  u/l valor normal = 25 u/l)
- Choque caracterizado por pressão sistólica  $< 80$  mmHg, oligo-anúria e sinais de hipoperfusão tecidual.
- Arritmias cardíacas exigindo tratamento elétrico nas primeiras 24 horas de pós-operatório.

## **4. Padronização Técnica**

Os pacientes foram submetidos aos procedimentos abaixo relacionados, que fazem parte da rotina do Serviço de Cirurgia e Anestesia para cirurgia cardíaca do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

### **4.1 Técnica anestésica**

A pré-medicação foi realizada com benzodiazepínicos (flunitrazepam 2mg por via oral, na noite anterior a cirurgia, e diazepam 10 mg por via oral uma hora antes da chegada do paciente ao bloco cirúrgico).

Os anestésicos utilizados foram midazolam 0,1 a 0,2 mg/kg intravenoso, fentanil 10 a 20 mcg/kg intravenoso e pancurônio na dose de 0,1 mg/kg intravenoso, seguidos de intubação orotraqueal e instituição de ventilação mecânica em respirador Narcolog. A ventilação foi ajustada de forma a manter um dióxido de carbono expirado de 30 a 35 mmHg.

A anestesia foi mantida com isoflurano em O<sub>2</sub> à 100%; midazolam em infusão contínua intravenosa de 0,5 a 1,5  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  e fentanil em infusão contínua intravenosa de 0,1 a 0,2  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ . Foram administradas doses adicionais de fentanil e pancurônio conforme a necessidade.

#### **4.2 Monitorização Transoperatória**

Durante o período transoperatório os pacientes tiveram os parâmetros vitais abaixo relacionados monitorizados através do monitor Hewlett Packard HP M1460A :

- cardioscopia nas derivações DII e V5 simultaneamente
- saturação arterial de oxigênio através de saturômetro de pulso
- pressão arterial média medida em artéria radial através de transdutor eletrônico
- pressão venosa central medida em veia jugular interna direita ou subclávia direita através de transdutor eletrônico
- temperatura retal e nasofaríngea aferidas por termômetros eletrônicos

#### **4.3 Exames Transoperatórios**

Foram colhidas amostras de sangue para dosagem de sódio, potássio, hematócrito, hemoglobina e gasometria arterial em tempos específicos: dez minutos após a instalação da ventilação mecânica, após o início da circulação extracorpórea, a cada meia hora durante a circulação extracorpórea, no reaquecimento após atingir-se a temperatura desejada (37 °C), após o término da circulação extracorpórea e no final da cirurgia.

O tempo de coagulação ativado foi usado para monitorar a anticoagulação. A anticoagulação foi realizada antes da canulação dos vasos com a administração de 4 mg/Kg de heparina a fim de obter um tempo de coagulação ativado > 600 segundos. A manutenção destes valores do tempo de coagulação ativado foi realizada com administração de doses adicionais de 1 mg/Kg de heparina a cada hora ou antes se houvesse necessidade. A reversão da heparinização foi realizada com protamina na proporção 1:1,3 após o término da circulação extracorpórea.

#### **4.4 Circuito extracorpóreo**

O equipamento de circulação extracorpórea foi constituído de máquina de rolete arterial Macchi modelo 5. O circuito de circulação extracorpórea foi montado com oxigenador de membrana nacional (Macchi ou Braile) e os demais componentes do circuito foram da mesma marca do oxigenador escolhido. O circuito extracorpóreo foi preenchido

com 1500 a 1800ml de Ringer lactato a fim de obter um hematócrito entre 25 a 28 %. Quando necessário foi adicionado sangue total ou concentrado de hemácias.

A circulação extracorpórea foi instituída com a colocação de cânula venosa no átrio direito e cânula arterial na aorta ascendente. Foi utilizado solução cardioplégica cristalóide tipo St Thomas II (B Braum) à 4°C, via anterógrada (injetada na aorta ascendente) e intermitente, administrada através de reservatório de cardioplegia de rolete. A dose inicial de cardioplegia foi calculada em 300 ml/m<sup>2</sup>. As doses subseqüentes de cardioplegia foram de solução cardioplégica cristalóide conforme critérios do cirurgião, sendo administrado metade da dose inicial em intervalos de aproximadamente 20 minutos.

A temperatura corporal dos pacientes foi reduzida para 28 a 32 °C (hipotermia moderada) e o fluxo de perfusão não pulsátil foi mantido entre 2,0 a 2,4 l/min/m<sup>2</sup>.

Após o término da revascularização e aquecimento do paciente à temperatura de 37°C a circulação extracorpórea foi interrompida. Inotrópicos (dopamina ou dobutamina) e vasodilatador (nitroprussiato de sódio) foram utilizados quando necessário.

## **5. Análise da função ventricular esquerda**

Foi realizada através de ventriculografia radioisotópica de repouso com hemácias marcadas com pirofosfato de tecnécio 99m adquirida em posição oblíqua anterior esquerda à 30° com zoom 1.6, utilizando 25-30 mci em gama câmara General Electric Starcam 4000i com programa computadorizado de processamento automático (PAGE).

A ventriculografia foi realizada no pré-operatório, após 24 horas do início da circulação extracorpórea e no sétimo dia pós-operatório. O exame do pós-operatório imediato foi realizado com acompanhamento médico. A interpretação dos resultados da ventriculografia foi feita por observador que desconhecia o resultado dos marcadores biológicos.

## **6. Análise das citocinas e troponina-I**

### **6.1 Método de Colheita**

As amostras de sangue para dosagem de citocinas e Tn-I foram colhidas da linha arterial (monitorização de rotina) nos seguintes tempos:

T0 - logo após indução da anestesia

T3- 3 horas após o início da circulação extracorpórea

T8- 8 horas após o início da circulação extracorpórea

T24- 24 horas após o início da circulação extracorpórea

Foram colhidos, em cada amostra, 15 ml de sangue em frasco contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) para a dosagem das citocinas e 5 ml de sangue em frasco sem conservante para a dosagem de troponina-I. Logo após a colheita as amostras foram levadas ao Laboratório de Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre para centrifugação. O plasma e soro obtidos na centrifugação foram armazenados à - 20 °C para posterior análise conjunta.

## **6.2 Método de dosagem plasmática dos marcadores biológicos**

A dosagem plasmática das citocinas foi realizada por ensaio enzimático imunoabsorvente quantitativo (ELISA) em conjuntos comercializados para uso em pesquisa (R & D Systems, Minneapolis, Minnesota, EUA). A dosagem de troponina-I foi realizada através de ELISA em módulos individuais comercializados pela Behring e analisados no aparelho Opus Plus (Behring) do Laboratório Weinmann de Porto Alegre.

Os valores esperados em indivíduos aparentemente saudáveis fornecidos pelo fabricante dos conjuntos de dosagem utilizados neste estudo foram:

- TNF- $\alpha$  - de não detectável até 4,12 pg/ml
- TNF-RI - 484 até 1407 pg/ml
- TNF-RII - 829 até 2262 pg/ml
- IL-6 - de não detectável até 11,5 pg/ml
- Tn-I - inferior a 0,5 ng/ml

O método ELISA consiste de uma reação imunoenzimática que envolve uma reação simultânea entre uma substância ou mediador presente na amostra ou solução padrão com anticorpos específicos pré-colocados na superfície das valetas das placas, formando uma ligação entre as duas substâncias (conjugado). O material que não se ligou na reação é retirado por aspiração e lavagem. A quantidade de substância que ficou ligada em cada valeta é detectada através de uma reação com substrato específico por uma enzima que

produz um produto de coloração proporcional a quantidade de conjugado da amostra ou solução padrão. O produto que adquire cor é quantificado por fotometria. A concentração presente em cada amostra é obtida pela interpolação dos resultados de densidade óptica da amostra em uma equação polinomial de terceiro grau, gerada a partir da curva padrão, realizada com diferentes concentrações conhecidas da substância de interesse.

As placas de poliestireno para cada mediador contém 96 valetas com anticorpo monoclonal não inibitório, de concentração conhecida, específico para cada substância a ser medida. Para cada placa é realizada uma curva padrão. A curva padrão e as amostras foram executadas em duplicata para diminuir a variabilidade do método. Todas as amostras foram analisadas em conjunto e simultaneamente para cada citoquina em estudo, com a finalidade de evitar a variação inter-ensaio.

A execução dos ensaios de ELISA para TNF- $\alpha$ , TNF-RI, TNF-RII e IL-6 foi realizada pelo autor no Laboratório de Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, com supervisão dos profissionais do laboratório. A execução do ensaio para Tn-I foi realizada no Laboratório Weinmann, pelos profissionais do laboratório e com o acompanhamento do autor. A análise dos marcadores biológicos foi realizada sem o conhecimento dos resultados da ventriculografia.

## **7- Análise estatística**

Os dados foram tabulados e analisados no programa Statistics Package for Social Science (SPSS). As variáveis contínuas com distribuição normal são apresentadas como médias e desvio padrão e nos casos onde há assimetria dos dados são expressas em mediana e quartis. Os pacientes foram separados em dois grupos de acordo com o comportamento da fração de ejeção em 24 horas de pós-operatório (grupo A- aumento da fração de ejeção; grupo D- diminuição da fração de ejeção). Os testes U de Mann-Whitney ou exato de Fisher foram utilizados para comparar as características clínicas dos dois grupos. Foi utilizado o teste de Friedman para avaliar as dosagens repetidas dos níveis de mediadores nos horários seqüenciais e a variação da fração de ejeção nos diferentes tempos. A comparação entre os dois grupos para os níveis de mediadores em cada horário de coleta foi realizada através do teste U de Mann-Whitney. O coeficiente de correlação de Spearman foi

utilizado para correlacionar as variáveis clínicas e os marcadores biológicos. Para todos os testes estatísticos utilizados considerou-se estatisticamente significativo um  $p < 0,05$ .

### **8- Considerações éticas**

O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética e Pesquisa do Grupo de Pesquisa e Pós-graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. A pesquisa foi categorizada como grupo II (com risco mínimo) pelas Normas de Pesquisa em Saúde. Por esta razão, os pacientes ou responsáveis, após serem informados da finalidade do estudo, assinaram o consentimento informado previamente à sua inclusão no protocolo (ANEXO I).

## RESULTADOS

### 1. Características clínicas da amostra

No período de 01 de fevereiro de 1997 à janeiro de 1998 foram incluídos no estudo 22 pacientes, sendo excluídos 3 pacientes da amostra, dois por apresentarem infarto agudo do miocárdio perioperatório e um por apresentar choque cardiogênico no pós-operatório.

Os 19 pacientes estudados foram divididos em dois grupos de acordo com o comportamento da fração de ejeção em 24 horas de pós-operatório. O grupo A (aumento da fração de ejeção em 24 horas) contou com 10 pacientes, enquanto o grupo D (diminuição da fração de ejeção em 24 horas) contou com 9 pacientes.

Não houve intercorrências transoperatórias. Todos os pacientes receberam dopamina em dose  $\beta$ -agonista ( $5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) do término da circulação extracorpórea até o final da cirurgia e nenhum paciente necessitou de inotrópicos no pós-operatório. Após à cirurgia foi utilizado vasodilatador (nitroprussiato de sódio) para manter a pressão arterial média entre 60 e 90 mmHg e a ventilação mecânica foi mantida em respirador ciclado à pressão (Bird) e ajustada através de gasometria arterial. A extubação ocorreu em média 12 a 18 horas após à cirurgia. Todos os pacientes realizaram a ventriculografia radioisotópica de 24 horas de pós-operatório em ventilação espontânea, recebendo oxigênio através de cateter nasal.

As características clínicas dos dois grupos são apresentadas na Tabela I. Não houve diferenças significativas entre os dois grupos com relação às variáveis clínicas estudadas.

**Tabela I. Características clínicas da amostra**

<b>Variável</b>	<b>Grupo A (n=10)</b>	<b>Grupo D (n= 9)</b>	<b>p</b>
<b>Idade (anos)*</b>	58 ± 7,8	59 ± 9,2	NS
<b>Peso (kg)*</b>	81,6 ± 14,3	71,1 ± 19,3	NS
<b>Sexo**</b>	M 9 ( 90%) F 1 ( 10%)	M 6 ( 66,7%) F 3 ( 33,3%)	NS
<b>Nº Enxertos*</b>	2,8 ± 0,9	2,6 ± 0,5	NS
<b>Freq Mamárias**</b>	6 ( 60%)	5 ( 55,6%)	NS
<b>Tempo de CEC (min)*</b>	66,1 ± 21,7	61,1 ± 18,2	NS
<b>Tempo PAo (min)*</b>	45,9 ± 20,1	38,3 ± 15,7	NS

**Abreviaturas:** Nº Enxertos- número de enxertos coronarianos, Freq Mamárias- número de enxertos de artéria mamária, Tempo de CEC- tempo de circulação extracorpórea, Tempo PAo- tempo de pinçamento aórtico, Sexo- M= masculino e F= feminino.

Valores expressos como média ± desvio-padrão.

NS- não significativo ( $p \geq 0,05$ )

\* Teste U Mann-Whitney \*\* Teste exato de Fisher



## 2. Comportamento da fração de ejeção nos grupos A e D

Os pacientes do grupo A apresentaram uma elevação não significativa da fração de ejeção do pré-operatório para 24 horas e sétimo dia de pós-operatório. Entretanto, o grupo D apresentou uma queda significativa da fração de ejeção do pré-operatório para 24 horas de pós-operatório ( $p= 0,004$ ), com posterior recuperação em sete dias para valores próximos ao do pré-operatório (figura 6).

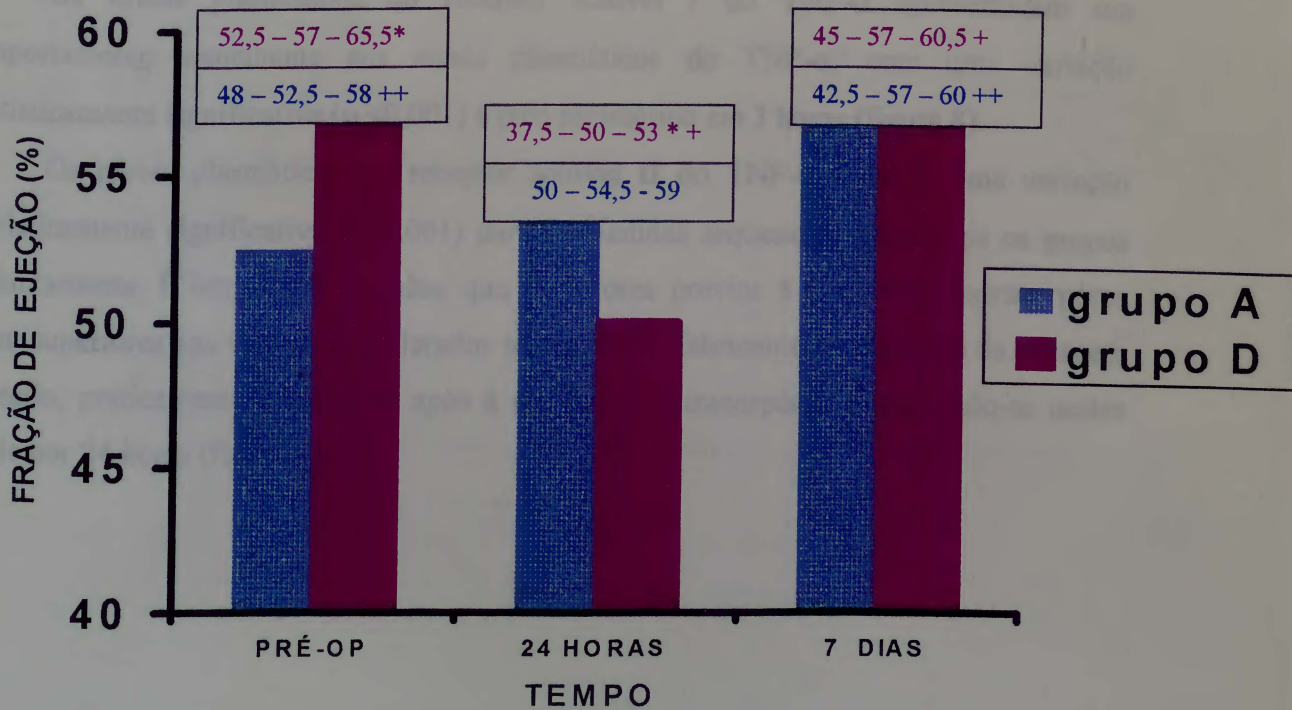


Figura 6. Comportamento da fração de ejeção nos grupos A (aumento da fração de ejeção em 24 horas) e D (redução da fração de ejeção em 24 horas). Os valores são expressos em mediana e quartis 25% e 75% nas cores de cada grupo.

$P < 0,05$  - \* + ++

Teste de Friedman

### **3. Concentração plasmática seqüencial do TNF- $\alpha$ e seus receptores em todos os pacientes**

As concentrações plasmáticas de TNF- $\alpha$  variaram de forma significativa ( $p < 0,001$ ) ao longo das medidas seqüenciais quando considerados ambos os grupos conjuntamente. Houve um aumento na concentração sérica deste marcador em todos os tempos de coleta quando comparados ao valor prévio à instalação da circulação extracorpórea, com pico plasmático em 3 horas (figura 7).

Os níveis plasmáticos do receptor solúvel I do TNF- $\alpha$  apresentaram um comportamento semelhante aos níveis plasmáticos do TNF- $\alpha$ , com uma variação estatisticamente significativa ( $p < 0,001$ ) e pico plasmático em 3 horas (figura 8).

Os níveis plasmáticos do receptor solúvel II do TNF- $\alpha$  tiveram uma variação estatisticamente significativa ( $p = 0,001$ ) para as medidas seqüenciais de ambos os grupos conjuntamente. É importante ressaltar que os valores prévios à circulação extracorpórea foram superiores aos valores considerados normais pelo fabricante do conjunto de dosagem utilizado, praticamente duplicando após à circulação extracorpórea e mantendo-se nestes níveis por 24 horas (figura 9).

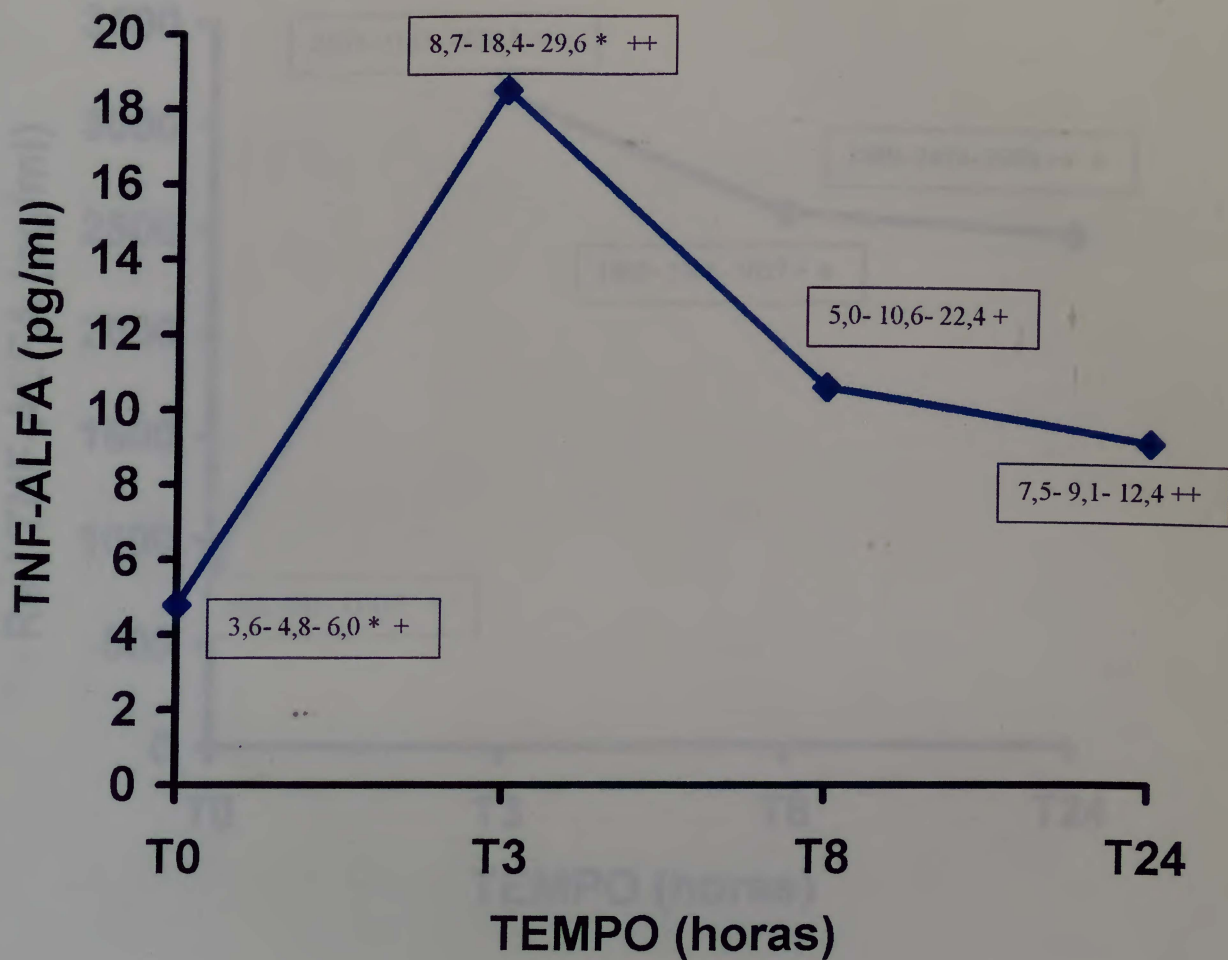


Figura 7. Valores plasmáticos da dosagem seqüencial de TNF- $\alpha$  em todos os pacientes.

Valores expressos em mediana e quartis 25% e 75%.

$p < 0,05$  - \* + ++

Teste de Friedman.

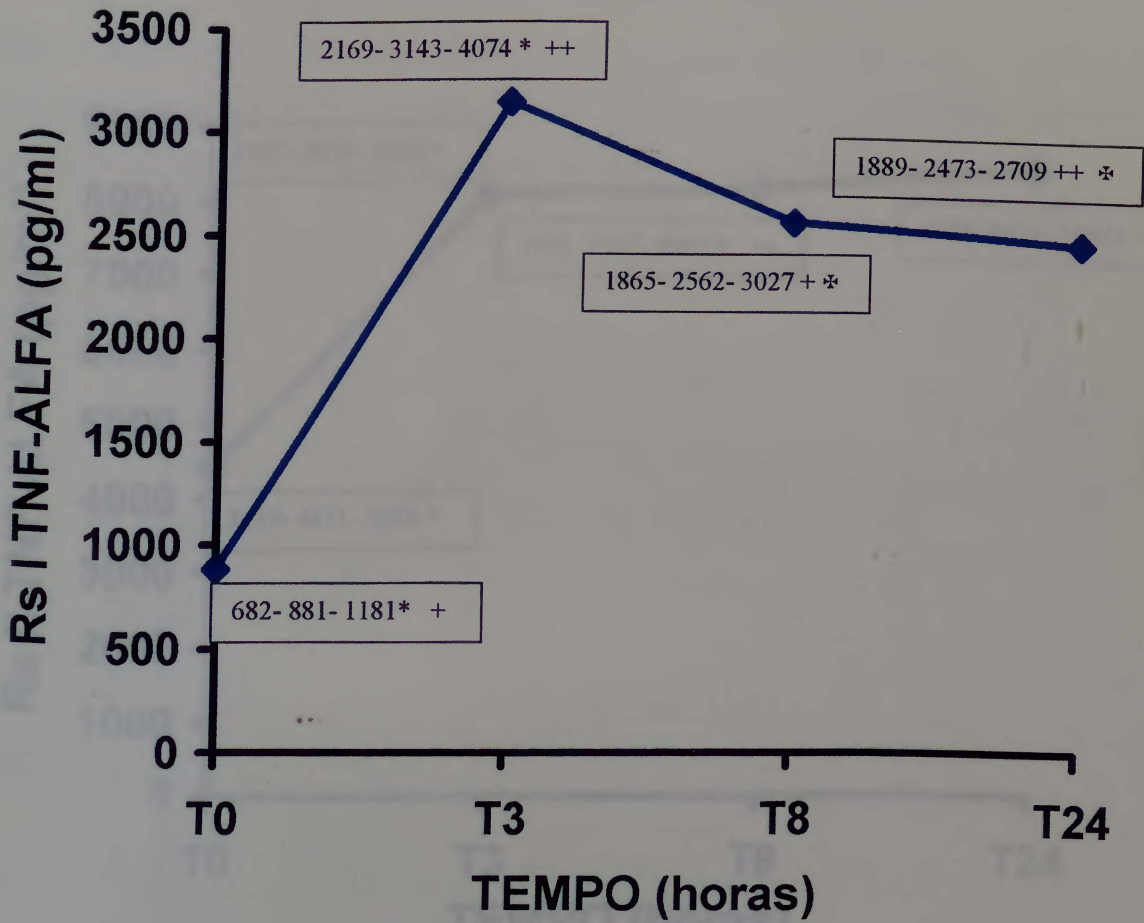


Figura 8. Valores plasmáticos da dosagem seqüencial do receptor solúvel I do TNF- $\alpha$  em todos os pacientes. Valores expressos em mediana e quartis 25% e 75%.

$p < 0,05$  - \* + ++ \*

Teste de Friedman.

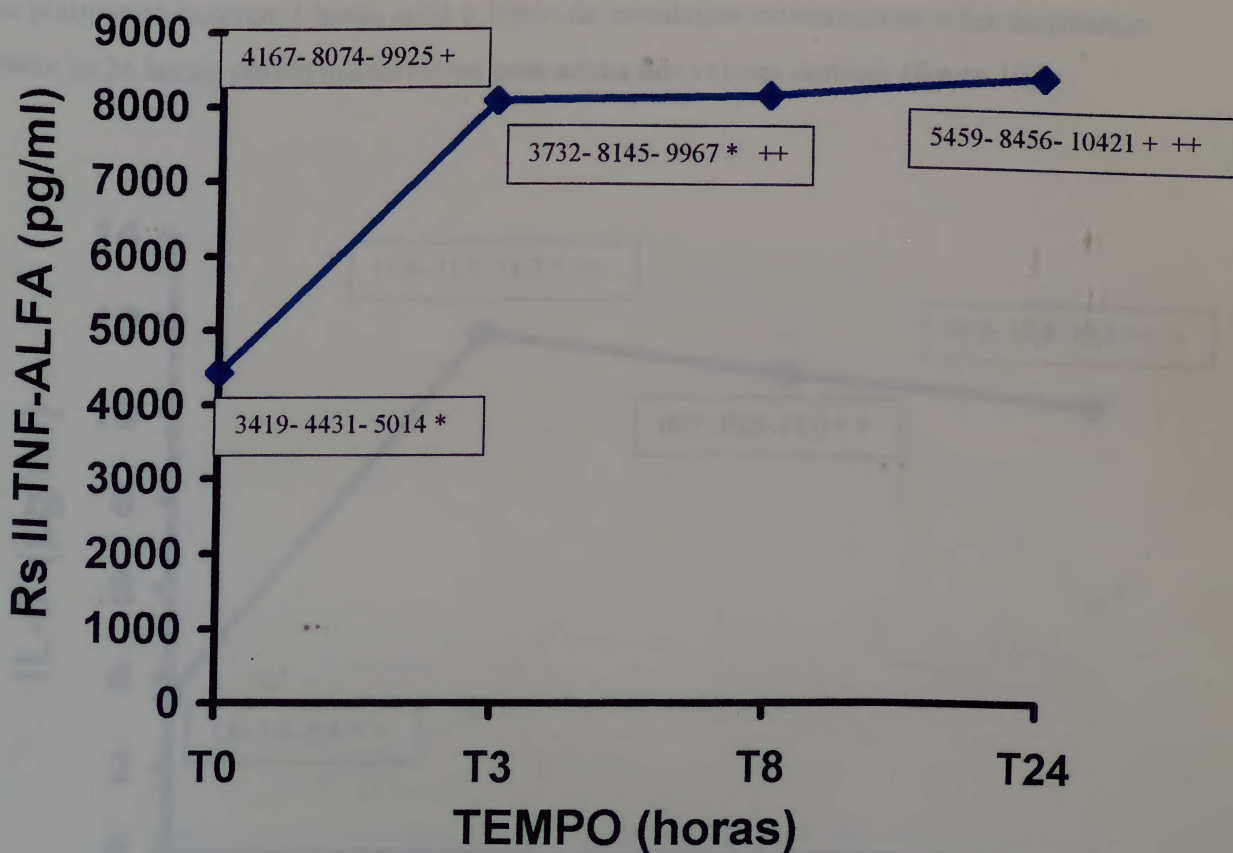


Figura 9. Valores plasmáticos da dosagem seqüencial do receptor solúvel II do TNF- $\alpha$  em todos os pacientes. Valores expressos em mediana e quartis 25% e 75%.

$p < 0,05$  - \* + ++

Teste de Friedman.



#### 4. Concentração plasmática seqüencial da interleucina-6 em todos os pacientes

Os níveis plasmáticos de interleucina-6 elevaram-se significativamente ao longo das medidas seqüenciais quando considerados ambos os grupos conjuntamente ( $p < 0,001$ ). O pico plasmático ocorreu 3 horas após o início da circulação extracorpórea e foi declinando durante as 24 horas, porém mantendo-se bem acima dos valores normais (figura 10).

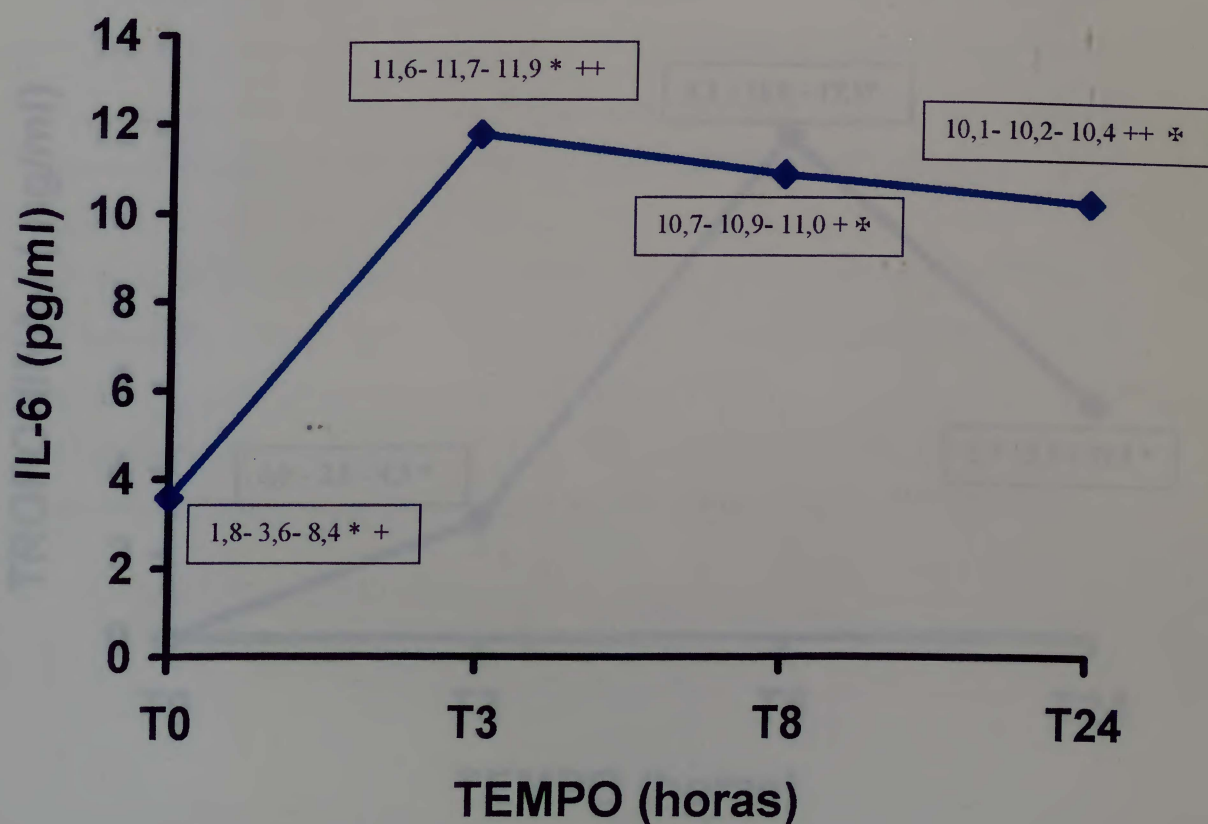


Figura 10. Valores plasmáticos da dosagem seqüencial de interleucina-6 em todos os pacientes. Valores expressos em mediana e quartis 25% e 75%.

$p < 0,05$  - \* + ++ \*

Teste de Friedman.

### 5. Concentração sérica seqüencial de troponina-I em todos os pacientes

De forma semelhante aos demais marcadores a troponina-I apresentou uma variação estatisticamente significativa ao longo das medidas seqüenciais quando considerados ambos os grupos conjuntamente ( $p < 0,001$ ). Seu pico sérico ocorreu 8 horas após o início da circulação extracorpórea (figura 11).

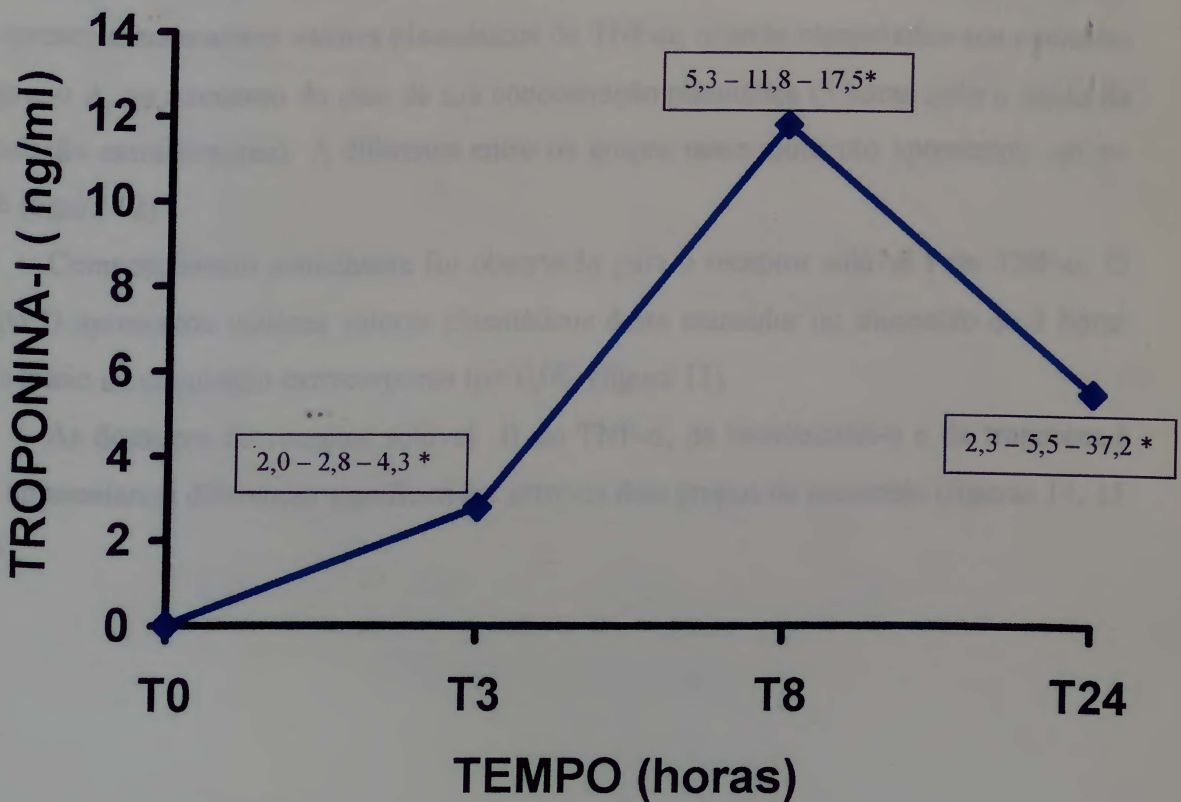


Figura 11. Valores séricos da dosagem seqüencial de troponina-I em todos os pacientes. Valores expressos em mediana e quartis 25% e 75%.

$p < 0,05$  - \*

Teste de Friedman.

## 6. Concentrações plasmáticas seqüenciais dos marcadores biológicos nos dois grupos de pacientes

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores plasmáticos dos marcadores biológicos entre os pacientes dos grupos A e D. Entretanto foi encontrado significância estatística limítrofe para os valores plasmáticos de TNF- $\alpha$  e do receptor solúvel I do TNF- $\alpha$  no momento de 3 horas após o início da circulação extracorpórea.

Os pacientes com queda da fração de ejeção em 24 horas de pós-operatório (grupo D) apresentaram maiores valores plasmáticos de TNF- $\alpha$ , quando comparados aos pacientes do grupo A, no momento do pico de sua concentração plasmática (3 horas após o início da circulação extracorpórea). A diferença entre os grupos neste momento apresentou um  $p=0,06$  (figura 12).

Comportamento semelhante foi observado para o receptor solúvel I do TNF- $\alpha$ . O grupo D apresentou maiores valores plasmáticos deste marcador no momento de 3 horas após início da circulação extracorpórea ( $p=0,08$ ) (figura 13).

As dosagens do receptor solúvel II do TNF- $\alpha$ , da interleucina-6 e da troponina-I não apresentaram diferenças significativas entre os dois grupos de pacientes (figuras 14, 15 e 16).



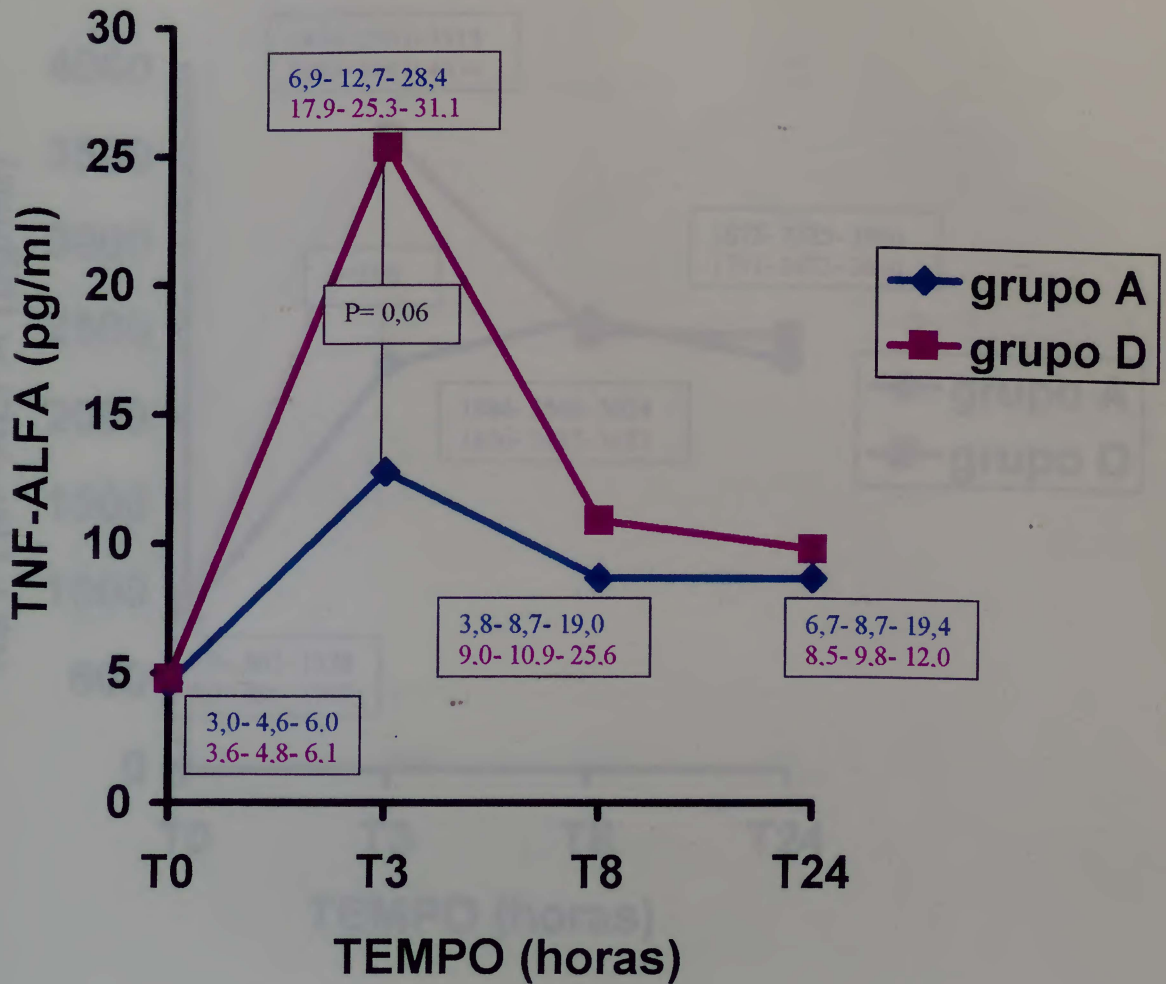


Figura 12. Valores plasmáticos da dosagem seqüencial de TNF- $\alpha$  nos grupos A (aumento da fração de ejeção em 24 horas) e D (diminuição da fração de ejeção em 24 horas). Valores expressos em mediana e quartis 25% e 75% nas cores de cada grupo. O valor de p está indicado.

Teste U de Mann-Whitney.

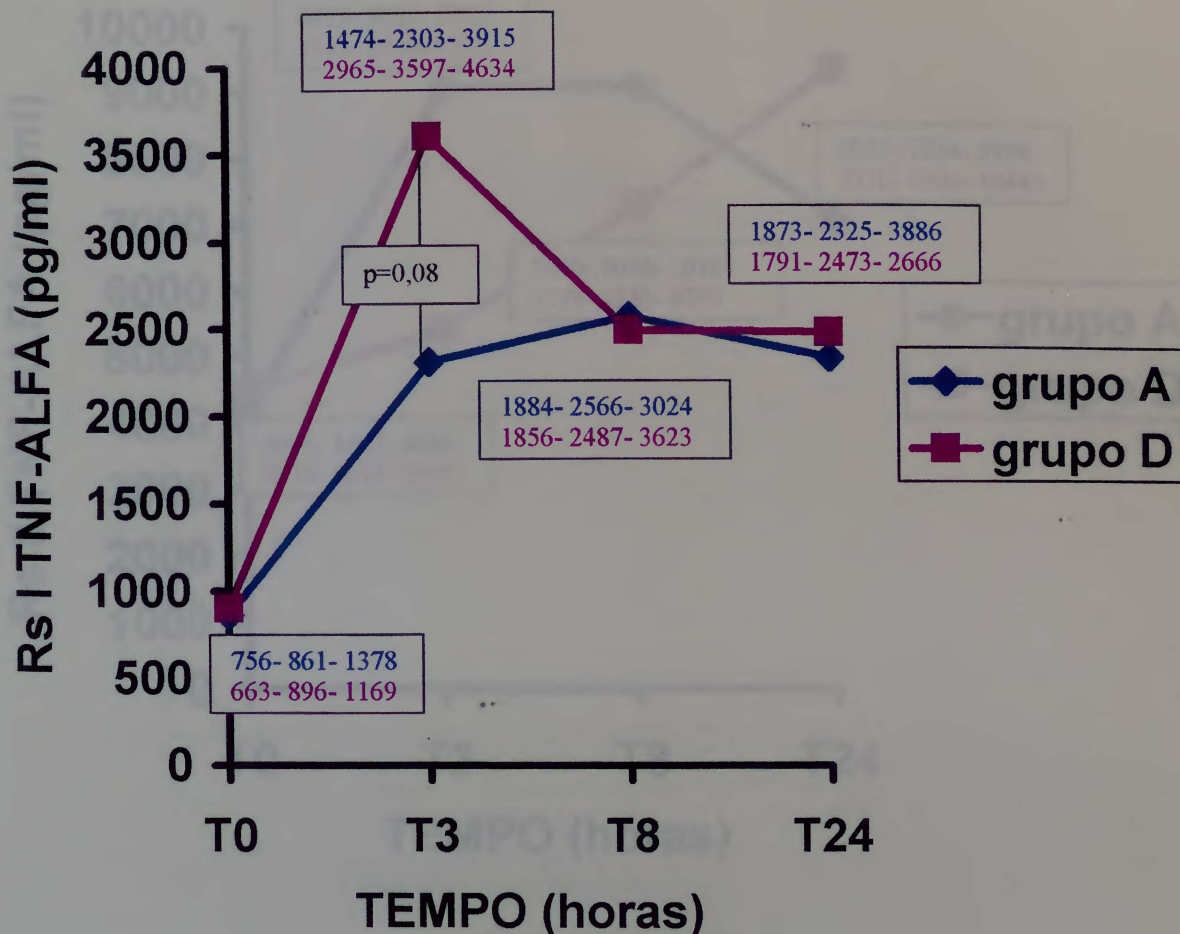


Figura 13. Valores plasmáticos da dosagem seqüencial do receptor solúvel I do TNF- $\alpha$  nos grupos A (aumento da fração de ejeção em 24 horas) e D (diminuição da fração de ejeção em 24 horas). Valores expressos em mediana e quartis 25% e 75% nas cores de cada grupo. O valor de p está indicado.

Teste U de Mann-Whitney.

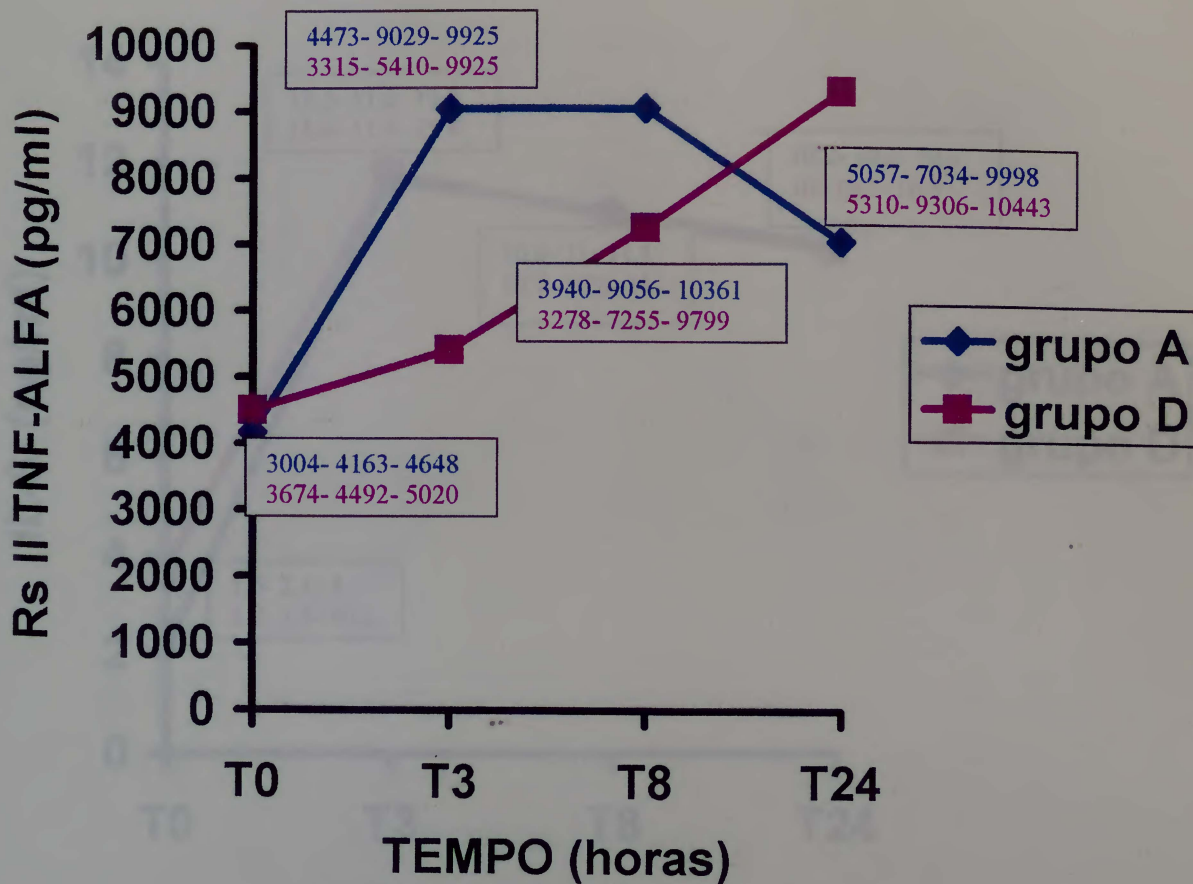


Figura 14. Valores plasmáticos da dosagem seqüencial do receptor solúvel II do TNF- $\alpha$  nos grupos A (aumento da fração de ejeção em 24 horas) e D (diminuição da fração de ejeção em 24 horas). Valores expressos em mediana e quartis 25% e 75% nas cores de cada grupo.

Teste U de Mann-Whitney.

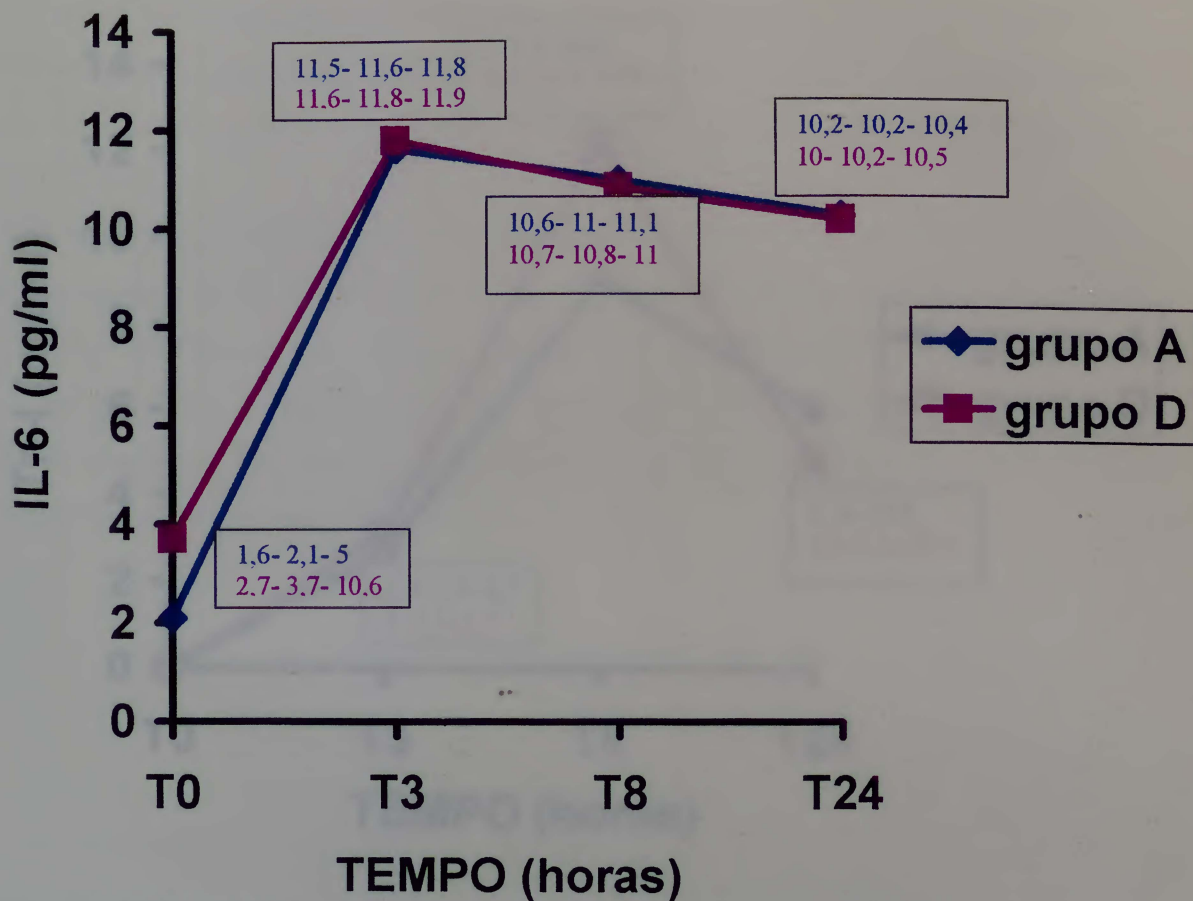


Figura 15. Valores plasmáticos da dosagem seqüencial da interleucina-6 nos grupos A (aumento da fração de ejeção em 24 horas) e D (diminuição da fração de ejeção em 24 horas). Valores expressos em mediana e quartis 25% e 75% nas cores de cada grupo.

Teste U de Mann-Whitney.

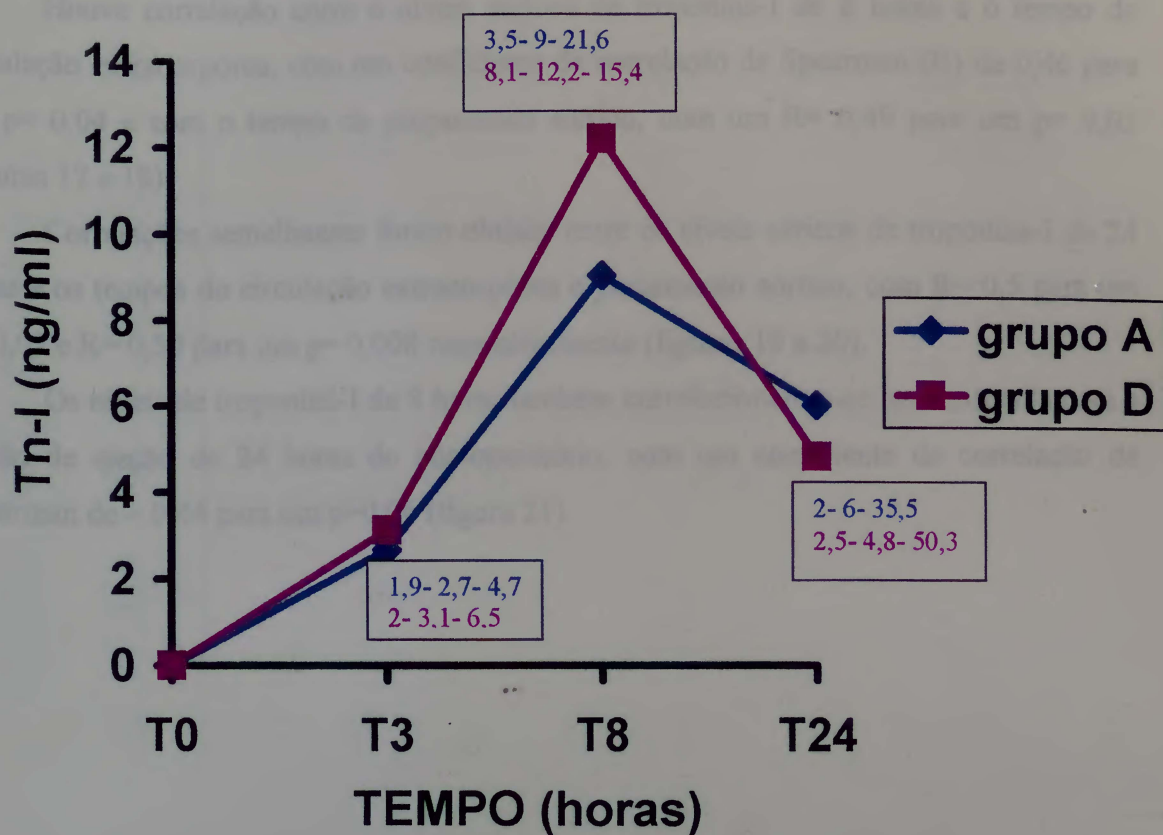


Figura 16. Valores séricos da dosagem sequencial de troponina-I nos grupos A (aumento da fração de ejeção em 24 horas) e D (diminuição da fração de ejeção em 24 horas). Valores expressos em mediana e quartis 25% e 75% nas cores de cada grupo.

Teste U de Mann-Whitney.



## 7. Correlações entre os níveis séricos de troponina-I e as variáveis clínicas

Houve correlação entre o níveis séricos de troponina-I de 8 horas e o tempo de circulação extracorpórea, com um coeficiente de correlação de Spearman (R) de 0,46 para um  $p= 0,04$  e com o tempo de pinçamento aórtico, com um  $R= 0,49$  para um  $p= 0,03$  (figuras 17 e 18).

Correlações semelhantes foram obtidas entre os níveis séricos de troponina-I de 24 horas e os tempos de circulação extracorpórea e pinçamento aórtico, com  $R= 0,5$  para um  $p= 0,02$  e  $R= 0,59$  para um  $p= 0,008$  respectivamente (figuras 19 e 20).

Os níveis de troponina-I de 8 horas também correlacionaram-se inversamente com a fração de ejeção de 24 horas de pós-operatório, com um coeficiente de correlação de Spearman de  $- 0,44$  para um  $p=0,06$  (figura 21).

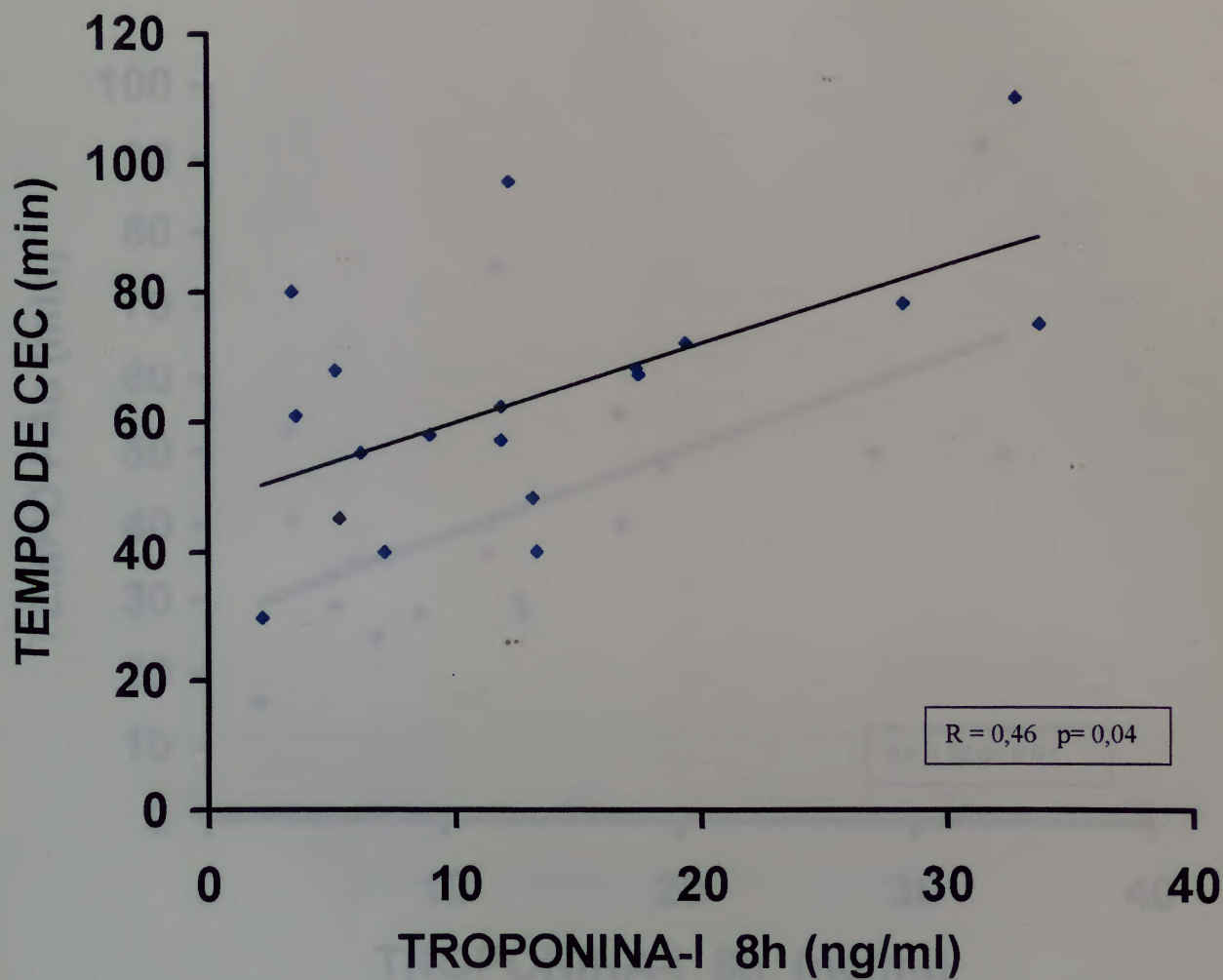


Figura 17. Correlação entre os níveis séricos de troponina-I em 8 horas e o tempo de circulação extracorpórea.

R= coeficiente de correlação de Spearman

Tempo de CEC- tempo de circulação extracorpórea

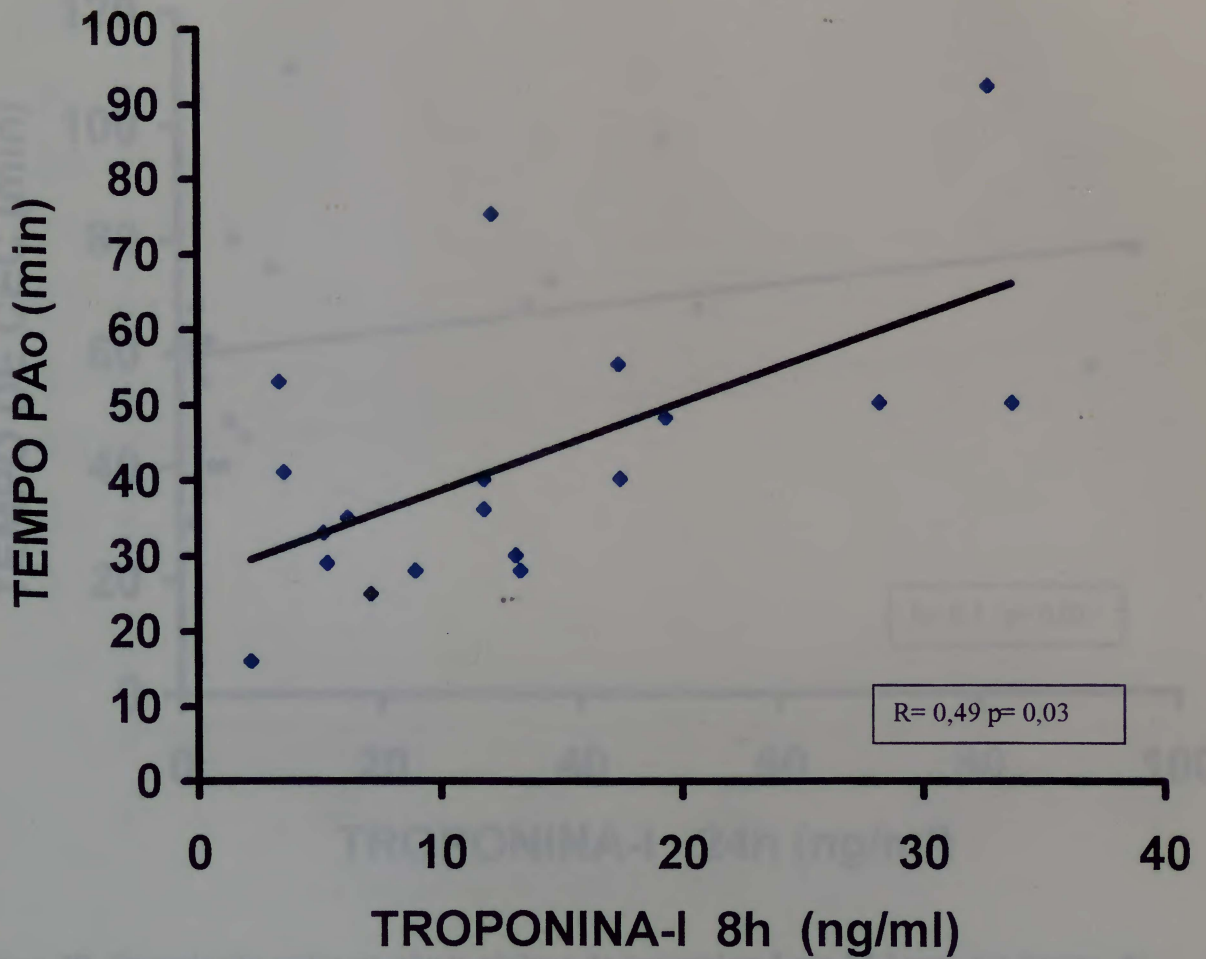


Figura 18. Correlação entre os níveis séricos de troponina-I em 8 horas e o tempo de pinçamento aórtico.

R= coeficiente de correlação de Spearman

Tempo de PAo- tempo de pinçamento aórtico



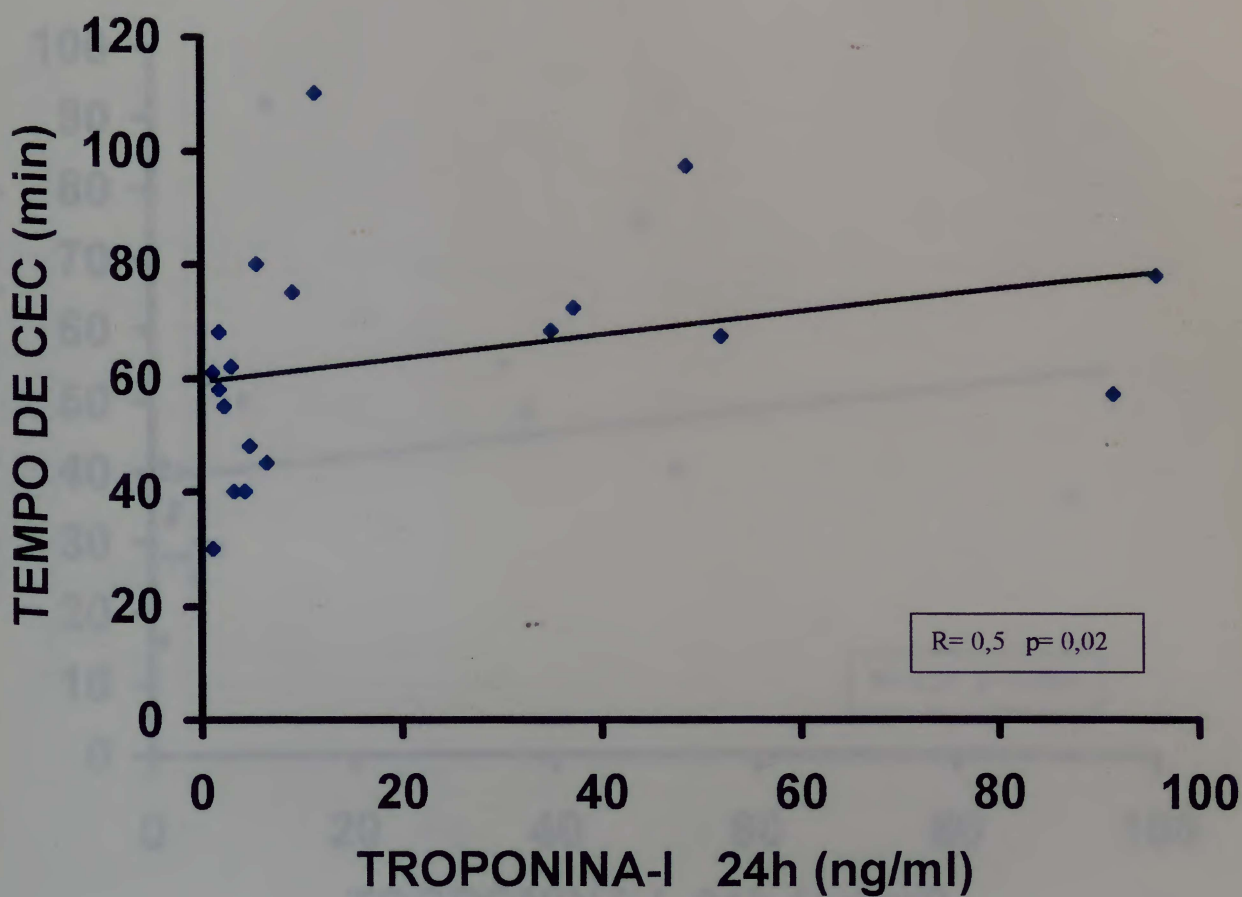


Figura 19. Correlação entre os níveis séricos de troponina-I em 24 horas e o tempo de circulação extracorpórea.

R= coeficiente de correlação de Spearman

Tempo de CEC- tempo de circulação extracorpórea

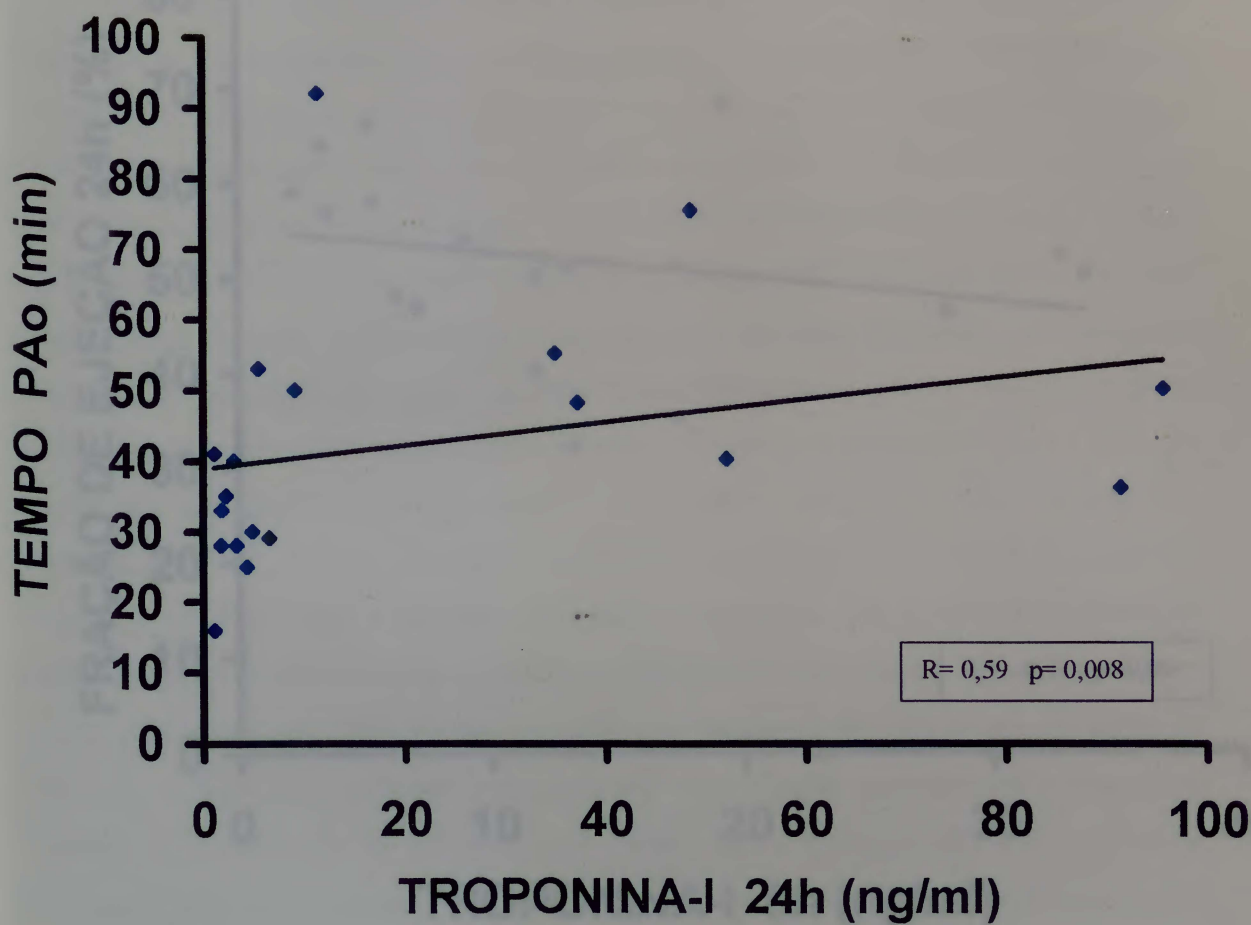


Figura 20. Correlação entre os níveis séricos de troponina-I em 24 horas e o tempo de pinçamento aórtico.

R= coeficiente de correlação de Spearman

Tempo de PAo- tempo de pinçamento aórtico

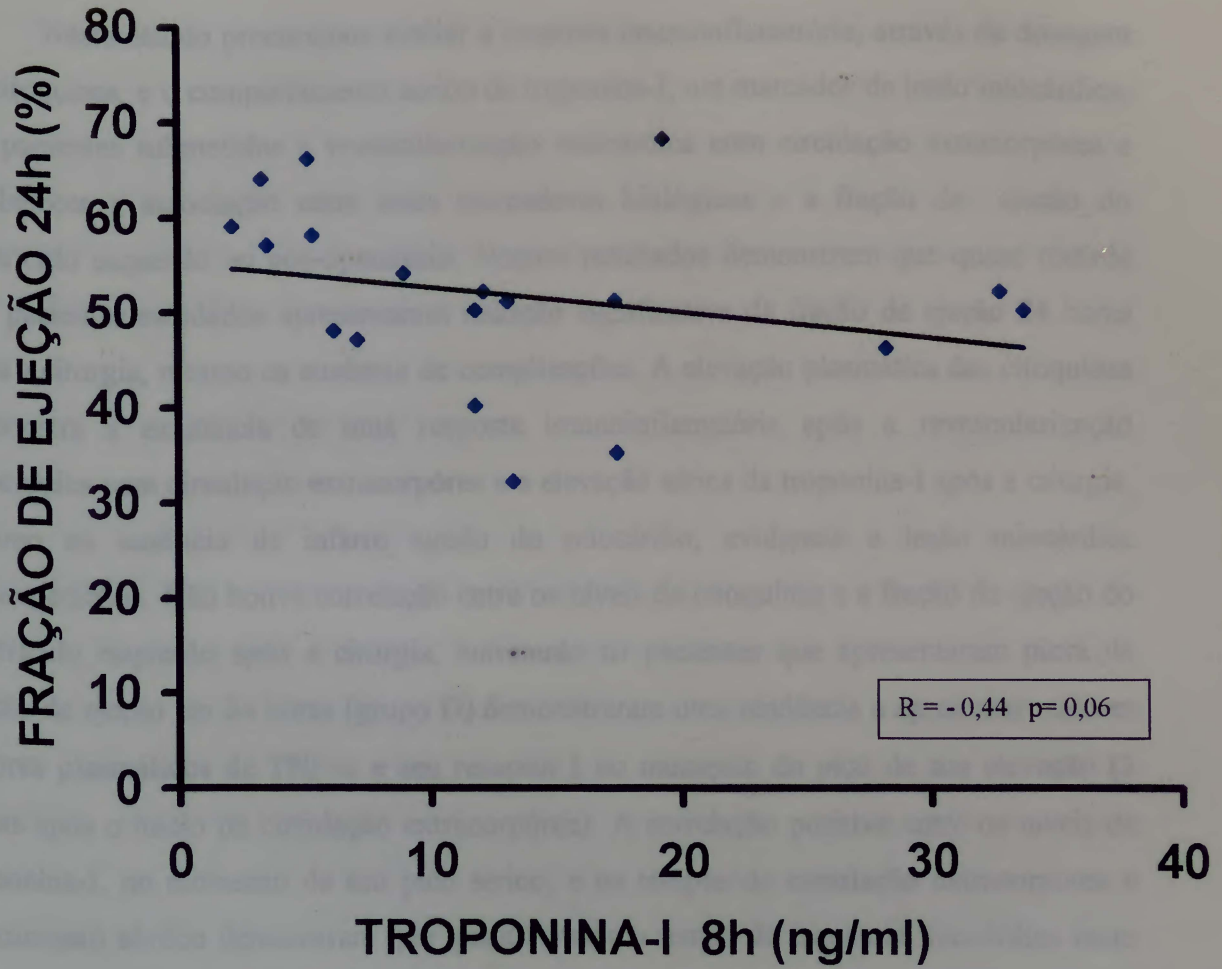


Figura 21. Correlação entre os níveis séricos de troponina-I em 8 horas e a fração de ejeção de 24 horas.

R= coeficiente de correlação de Spearman

## DISCUSSÃO

Neste estudo procuramos avaliar a resposta imunoinflamatória, através da dosagem de citocinas, e o comportamento sérico da troponina-I, um marcador da lesão miocárdica, em pacientes submetidos a revascularização miocárdica com circulação extracorpórea e estabelecer a associação entre estes marcadores biológicos e a fração de ejeção do ventrículo esquerdo no pós-operatório. Nossos resultados demonstram que quase metade dos pacientes estudados apresentaram redução significativa da fração de ejeção 24 horas após a cirurgia, mesmo na ausência de complicações. A elevação plasmática das citocinas demonstra a existência de uma resposta imunoinflamatória após a revascularização miocárdica com circulação extracorpórea e a elevação sérica da troponina-I após a cirurgia, mesmo na ausência de infarto agudo do miocárdio, evidencia a lesão miocárdica transoperatória. Não houve correlação entre os níveis de citocinas e a fração de ejeção do ventrículo esquerdo após a cirurgia, entretanto os pacientes que apresentaram piora da fração de ejeção em 24 horas (grupo D) demonstraram uma tendência a apresentar maiores valores plasmáticos de TNF- $\alpha$  e seu receptor I no momento do pico de sua elevação (3 horas após o início da circulação extracorpórea). A correlação positiva entre os níveis de troponina-I, no momento de seu pico sérico, e os tempos de circulação extracorpórea e pinçamento aórtico demonstram que quanto maior o tempo de isquemia miocárdica tanto pior é o dano miocárdico. A correlação inversa entre os níveis de troponina-I, no momento de seu pico sérico, e a fração de ejeção do ventrículo esquerdo 24 horas após a cirurgia sugere que quanto pior o dano miocárdio transoperatório, pior a função ventricular esquerda em 24 horas de pós-operatório.

### **Características clínicas da amostra**

Este estudo reuniu um grupo de pacientes considerados de baixo risco para cirurgia de revascularização miocárdica, visto que trataram-se de pacientes com boa função ventricular, sem co-morbidades importantes e com um pós-operatório livre de

complicações clínicas maiores. Desta forma, os achados deste estudo limitam-se a uma população específica de pacientes dentro da cirurgia cardíaca.

De acordo com a variação da fração de ejeção entre o pré-operatório e o primeiro dia de pós-operatório os pacientes foram divididos em dois grupos, que exceto pela variação da fração de ejeção foram semelhantes quanto às demais características clínicas, tais como idade, peso, sexo, número de enxertos e frequência de utilização da artéria mamária. Também foram semelhantes quanto aos tempos de circulação extracorpórea e pinçamento aórtico, fatores associados com a resposta inflamatória à circulação extracorpórea e ao grau de disfunção miocárdica pós-operatória (52,70).

### **Disfunção miocárdica pós-operatória**

Vários estudos têm demonstrado que a disfunção miocárdica é um achado comum no pós-operatório de cirurgias cardíacas. Sua intensidade e duração estão relacionadas com as condições miocárdicas prévias, ou seja, pacientes com pior função ventricular pré-operatória tendem a apresentar uma depressão ventricular mais intensa e duradoura (52,55,56,58). Em pacientes com boa função ventricular pré-operatória a disfunção miocárdica atinge seu pico entre 2 e 6 horas de pós-operatório e pode ocorrer recuperação de até 90 % do seus valores basais em 4 horas (55). No presente estudo avaliamos apenas pacientes com boa função ventricular no pré-operatório (fração de ejeção > 40%) e apesar disso, quase metade dos pacientes estudados apresentaram uma redução significativa da fração de ejeção em 24 horas, quando comparada à fração de ejeção do pré-operatório. Embora, por limitações técnicas, não tenha sido possível avaliar a fração de ejeção no período de maior depressão ventricular (2 a 6 horas após a circulação extracorpórea), identificamos um grupo de pacientes que persistiram com algum grau de depressão ventricular nas primeiras 24 horas de pós-operatório. Por sua vez, a depressão ventricular persistente pode ser decorrente de uma resposta inflamatória mais acentuada neste grupo de pacientes, como sugere a diferença com significância estatística limítrofe entre os níveis plasmáticos de TNF- $\alpha$  e seu receptor solúvel I, quando comparados os pacientes com melhora da fração de ejeção em 24 horas e aqueles com piora da fração de ejeção em 24 horas.

## Concentrações plasmáticas das citocinas

O TNF- $\alpha$  é um dos mais precoces e importantes mediadores inflamatórios endógenos e seus efeitos fisiológicos incluem hipotensão, febre, aumento na produção de proteínas da fase aguda, redução nos níveis séricos de albumina e depressão miocárdica (33). O comportamento do TNF- $\alpha$  após a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea é controverso. Steinberg e colaboradores, utilizando conjuntos de dosagem da R & D Systems com limites de sensibilidade de 15,6 a 1000 pg/ml, não observaram diferença significativa entre os valores de TNF- $\alpha$  pré-operatórios e de 3 horas após a circulação extracorpórea (24). Deng e colaboradores, utilizando conjuntos de dosagem do mesmo fabricante e com limites de detecção do TNF- $\alpha$  próximos daqueles usados em nosso estudo, apresentaram um pico plasmático 4 horas após o final da circulação extracorpórea e valores entre 0,3 e 9,5 pg/ml, quase três vezes mais que os valores basais encontrados (69). Outros resultados diferentes foram relatados, tais como, redução dos níveis plasmáticos de TNF- $\alpha$  após uma hora de circulação extracorpórea (valores basais de  $11,4 \pm 15$  pg/ml e uma hora após a liberação do pinçamento aórtico  $6,9 \pm 8$  pg/ml); detecção em apenas um de nove pacientes submetidos a correção de cardiopatia congênita; detecção em apenas três de dez pacientes submetidos à circulação extracorpórea com normotermia (25,26,29). Assim, os resultados conflitantes tem sido atribuídos às diferentes características dos estudos (uso de normotermia ou hipotermia, emprego de corticóides, tempo de colheita) ou das técnicas de dosagem empregadas (6,9,24,25,26,27,29,30,83).

Neste estudo utilizamos conjuntos de dosagem da R & D Systems HSTA50 de alta sensibilidade (0,5 a 32 pg/ml). O TNF- $\alpha$  apresentou uma variação significativa entre o pré-operatório (4,8 pg/ml mediana) e seu pico plasmático 3 horas após o início da circulação extracorpórea (18,4 pg/ml mediana), um aumento de quase quatro vezes em relação ao pré-operatório. A diferença observada entre os nossos resultados e os achados de Steinberg e colaboradores, que utilizaram conjuntos de dosagem do mesmo fabricante, deve-se provavelmente a maior sensibilidade do conjunto de dosagem utilizado em nosso estudo (24). Desta forma, estes resultados contribuem para estabelecer que após cirurgias cardíacas com circulação extracorpórea e hipotermia moderada ocorre elevação nos níveis

plasmáticos de TNF- $\alpha$  e que estas alterações podem ser reconhecidas utilizando-se conjuntos de dosagem de alta sensibilidade.

O TNF- $\alpha$  exerce sua ação ligando-se a receptores específicos. Estes receptores podem ser ligados à membrana celular ou solúveis, receptores estes que se desprendem na circulação após o TNF- $\alpha$  ter exercido sua ação celular (20). Dois tipos de receptores para o TNF- $\alpha$  foram descritos, ditos receptor I e II do TNF- $\alpha$ . A função destes receptores solúveis ainda é incerta. Acredita-se que estes receptores desprendam-se da superfície das células após mediarem o efeito do TNF- $\alpha$  e ligam-se ao TNF- $\alpha$  circulante inativando-o. Desta forma, realizam uma regulação da atividade biológica do TNF- $\alpha$ , funcionando como um mecanismo homeostático *in vivo*, ou seja, baixos níveis de receptores solúveis servem como uma reserva para a liberação gradual enquanto altos níveis destes receptores solúveis antagonizam os efeitos do TNF- $\alpha$  (20,40).

Poucos são os relatos na literatura da avaliação dos receptores solúveis do TNF- $\alpha$  em cirurgias cardíacas (33). McBride e colaboradores estudaram o comportamento do TNF- $\alpha$  e seus receptores I e II em 20 pacientes submetidos a revascularização miocárdica, utilizando conjuntos de dosagem padronizados semelhantes aos de nosso estudo (R & D Systems). Embora os valores absolutos dos receptores solúveis I e II do TNF- $\alpha$  tenham sido mais baixos dos que os encontrados no atual estudo ( $\pm 2000$  pg/ml para ambos os receptores 2 horas após o final da circulação extracorpórea), o perfil temporal foi semelhante, ou seja, o TNF-RI apresentou um pico plasmático 2 horas após o final da circulação extracorpórea (aproximadamente duas vezes o valor pré-operatório) e o TNF-RII apresentou uma elevação progressiva até atingir seu pico plasmático em 24 horas (aproximadamente uma vez e meia o valor pré-operatório). Ambos mantiveram-se elevados ao final das 24 horas. O TNF- $\alpha$  também apresentou elevação 2 horas após o final da circulação extracorpórea porém seu valor absoluto foi bem inferior ao encontrado neste estudo (aproximadamente 2,5 pg/ml) (127).

O receptor I do TNF- $\alpha$  comportou-se de forma bastante semelhante ao TNF- $\alpha$  no presente estudo. Apresentou valores iniciais dentro dos limites normais descritos pelo fabricante e elevação plasmática após a circulação extracorpórea com pico em 3 horas (aproximadamente três vezes e meia os valores basais) e queda progressiva em 24 horas,

porém mantendo valores ainda elevados ao final deste período. Quando comparados os dois grupos de pacientes, observamos maiores níveis plasmáticos 3 horas após a circulação extracorpórea nos pacientes do grupo com piora da fração de ejeção em 24 horas, porém sem diferença estatisticamente significativa.

O receptor II do TNF- $\alpha$  apresentou valores basais acima dos valores considerados normais pelo fabricante e praticamente teve seus níveis plasmáticos duplicados 24 horas após o início da circulação extracorpórea. Observamos que os pacientes do grupo com melhora da fração de ejeção em 24 horas apresentaram uma elevação mais precoce dos níveis plasmáticos do TNF-RII, entretanto a diferença entre os grupos não foi significativa.

O aumento dos níveis plasmáticos dos receptores do TNF- $\alpha$  já foram descritos em várias situações clínicas, entre elas na insuficiência cardíaca e sepse (40,41,128). Brauner e colaboradores investigaram o comportamento do TNF- $\alpha$  e seus receptores solúveis em pacientes com choque séptico e demonstraram que os níveis plasmáticos do receptor solúvel I do TNF- $\alpha$  foram significativamente mais elevados no grupo de pacientes não sobreviventes, indicando talvez uma produção mais acentuada de TNF- $\alpha$  neste grupo de pacientes e por conseguinte, uma maior concentração de TNF-RI numa tentativa de antagonizar os efeitos pró-inflamatórios do TNF- $\alpha$  (129). De forma análoga, podemos sugerir o mesmo processo no presente estudo, ou seja, a maior concentração de TNF-RI observada nos pacientes com piora da fração de ejeção em 24 horas de pós-operatório associa-se aos maiores níveis plasmáticos de TNF- $\alpha$  observados no mesmo grupo de pacientes, provavelmente secundário a um antagonismo aos efeitos pró-inflamatórios desta citocina. Entretanto, o significado fisiopatológico deste aumento ainda requer maiores investigações. O esclarecimento do processo que vai desde a secreção das citocinas, sua ligação com receptores específicos na célula alvo e a indução da síntese de proteínas permitirá a manipulação terapêutica destas etapas, como por exemplo, através da administração exógena destes receptores como uma forma de reduzir os níveis de TNF- $\alpha$  circulantes e subsequentemente sua ação pró-inflamatória (33).

A interleucina-6 apresenta múltiplas funções biológicas e sua liberação é estimulada por endotoxinas, TNF- $\alpha$  e especialmente pela interleucina-1. Esta citocina tem sido usada como um marcador da indução ou supressão da resposta inflamatória em pacientes sofrendo circulação extracorpórea, visto que ela se altera de forma aguda em



resposta ao estresse (6,8,9). Graças a esta resposta fisiológica aguda à lesão tecidual, a elevação sérica da IL-6 tem sido associada a morbidade e mortalidade após trauma, queimaduras e cirurgias eletivas (42,43,44). Os resultados descritos na literatura para a dosagem de IL-6 após cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea são mais uniformes do que os observados para o TNF- $\alpha$ . Steinberg e colaboradores, utilizando um conjunto de dosagem da R & D Systems D6050 (3,12 a 300 pg/ml) encontraram valores basais de IL-6 de  $0,8 \pm 0,3$  pg/ml e pico plasmático em 3 horas após circulação extracorpórea de  $149,7 \pm 34,1$  pg/ml, ou seja, níveis plasmáticos cerca de 180 vezes maiores que os valores basais (24). Deng e colaboradores, usando um conjunto de dosagem diferente do utilizado no presente estudo, descreveram valores de IL-6 quatro horas após o término da circulação extracorpórea de 150 a 400 pg/ml (mais de 15 a 40 vezes os valores basais) em pacientes com boa função ventricular pré-operatória e sem complicações pós-operatórias. Outros estudos utilizando conjuntos de dosagem diferentes também demonstraram valores bem superiores aos encontrados em nosso estudo (26,27,29). No presente estudo utilizamos o conjunto de dosagem da R & D Systems HS600 de alta sensibilidade (0,156 a 10 pg/ml) para dosagem de IL-6 e encontramos valores basais de 3,6 pg/ml (mediana) e pico plasmático em 3 horas após circulação extracorpórea de 11,7 pg/ml (mediana), apenas três vezes mais que os valores basais. Assim, o mesmo argumento utilizado para o TNF- $\alpha$  pode justificar a diferença entre nossos resultados e os descritos na literatura, ou seja, os limites muito baixos de detecção de IL-6 de nossos conjuntos de dosagem nos leva a crer que atingimos o limite máximo da capacidade de detecção de IL-6 destes conjuntos, prejudicando a análise dos resultados deste marcador.

### **Concentrações séricas da troponina-I**

As troponinas têm sido avaliadas na literatura para diversos fins, tais como, comparar a efetividade das técnicas de proteção miocárdica transoperatórias em cirurgia cardíaca, diagnosticar infarto agudo do miocárdio perioperatório em cirurgias cardíacas e não cardíacas, determinar o prognóstico em síndromes coronarianas agudas, diagnosticar contusão miocárdica em vítimas de trauma e avaliar o dano miocárdico e prognóstico em cirurgias cardíacas (96,110,111,112,113,114,115,116,120,126).

Em cirurgias cardíacas, devido ao manuseio cardíaco direto e outros fatores de agressão do miocárdio, podem ser encontrados níveis elevados de troponina-I no pós-operatório mesmo na ausência de infarto agudo do miocárdio (100). Mair e colaboradores estudaram 26 pacientes submetidos à revascularização miocárdica de forma eletiva. Destes, 22 não apresentaram infarto agudo do miocárdio, mas tiveram elevação dos níveis de Tn-I em média três vezes acima dos valores normais ( $1,7 \pm 1,0$  ng/ml), com pico ocorrendo em torno de 8 horas após a liberação do pinçamento aórtico. Quatro pacientes apresentaram critérios eletrocardiográficos, ecocardiográficos e elevação de CK-MB compatíveis com infarto agudo do miocárdio. Destes, um apresentou infarto com onda Q (valor pico de Tn-I de aproximadamente 30 ng/ml) e três apresentaram infarto agudo do miocárdio não Q (valores de pico de Tn-I em torno de 5 ng/ml). Os autores concluem que após a revascularização miocárdica a presença de picos de Tn-I maiores que 3,7 ng/ml e concentrações superiores a 3,1 ng/ml em 12 horas ou a 2,5 ng/ml em 24 horas apresentam alta probabilidade de estarem associados ao infarto (113). Entretanto, os achados mais consistentes são de Sadony e colaboradores que estudando 119 pacientes submetidos a revascularização miocárdica estabeleceram valores de referência de Tn-I para o diagnóstico de infarto agudo do miocárdio no pós-operatório. O infarto agudo do miocárdio foi definido por critérios eletrocardiográficos, ecocardiográficos e enzimático (exceto Tn-I). Valores de 24 horas após a liberação do pinçamento aórtico superiores à 11,6 ng/ml apresentaram sensibilidade de 100% e especificidade de 97% para o diagnóstico de infarto agudo do miocárdio e correlacionaram-se com a área sob a curva das dosagens seriadas entre os intervalos de 2 a 48 horas, sugerindo que uma única dosagem em 24 horas pode ser tão efetiva quanto a dosagem seqüencial (114).

O objetivo da dosagem da troponina-I neste estudo foi o de quantificar a lesão miocárdica transoperatória e correlacioná-la com a função ventricular esquerda pós-operatória, visto tratar-se de um marcador biológico de alta sensibilidade e especificidade para o dano miocárdico. Observamos valores iniciais de troponina-I considerados normais ( $< 0,5$  ng/ml) em todos os pacientes estudados, com elevação dos níveis séricos de troponina-I nos horários subsequentes. Os níveis mais elevados deste marcador foram observados 8 horas após o início da circulação extracorpórea (cerca de vinte e cinco vezes

maiores que os valores basais) e não foi encontrada diferença significativa nestes níveis quando comparados os dois grupos de pacientes.

De acordo com outros estudos, diferentes pontos de corte são propostos para o diagnóstico de infarto perioperatório. Por exemplo, Adams e colaboradores encontraram em pacientes com infarto agudo do miocárdio no pós-operatório de cirurgias não cardíacas valores de Tn-I superiores a 3,5 ng/ml (112). Já Mair e colaboradores determinaram que valores bem próximos a este (3,7 ng/ml) seriam sugestivos de infarto agudo do miocárdio, porém em cirurgias de revascularização miocárdica (113). Talvez esta diferença possa ser explicada pelas técnicas empregadas na dosagem de troponina-I ou nos critérios usados para o reconhecimento de infarto agudo do miocárdio em cada estudo.

Se utilizássemos como ponto de corte para o diagnóstico de infarto agudo do miocárdio os valores estabelecidos por Sadony e colaboradores em 24 horas de pós-operatório (11,6 ng/ml) identificaríamos três pacientes de cada grupo de nosso estudo, que foram considerados como pacientes sem infarto agudo do miocárdio, com diagnóstico provável de infarto.

A ocorrência de infarto agudo do miocárdio após cirurgias de revascularização miocárdica é estimada em 5 a 15%, entretanto o diagnóstico de infarto nesta situação é mais difícil que o habitual (130). O mascaramento dos sintomas nas primeiras horas de pós-operatório, a inespecificidade das alterações eletrocardiográficas e a elevação da enzima CK-MB devido ao manuseio cardíaco dificultam o diagnóstico (130). Desta forma, o diagnóstico definitivo de infarto agudo do miocárdio após cirurgia cardíaca é atualmente aceito quando reunimos novas e persistentes ondas Q no eletrocardiograma, presença de novas áreas de acinesia ou discinesia no ecocardiograma e elevação da CK-MB de no mínimo 3 vezes o valor normal, embora este último critério não seja considerado indispensável por alguns autores (130). Em nosso estudo utilizamos como diagnóstico de infarto agudo do miocárdio apenas os critérios eletrocardiográfico e enzimático (ver material e métodos) o que pode ter levado a inclusão na amostra de pacientes com infarto agudo do miocárdio não reconhecido por estes critérios. Este fato poderia justificar os valores mais elevados de Tn-I que observamos em nossos pacientes considerados sem infarto. A determinação do ponto de corte do nível de Tn-I com alto valor preditivo positivo, capaz de diagnosticar o infarto agudo do miocárdio no perioperatório de cirurgia

cardíaca, irá estabelecer a verdadeira incidência desta complicação no pós-operatório e permitir estudar seus fatores de risco e prognóstico com maior exatidão.

### **Correlação entre os marcadores biológicos e a fração de ejeção do ventrículo esquerdo**

Em estudo realizado com ecocardiografia transesofágica, Heinen e colaboradores demonstraram a associação entre o escore de movimento da parede ventricular e os níveis plasmáticos de interleucina-6 da primeira hora após o término da circulação extracorpórea, sendo os maiores níveis de IL-6 associados aos piores escores de movimentação da parede ventricular neste período (70). Deng e colaboradores demonstraram que pacientes com prejuízo da função ventricular prévia à cirurgia cardíaca eletiva apresentam uma maior liberação de citocinas pró-inflamatórias no pós-operatório, quando comparados a pacientes com boa função ventricular (69). Este estudo relatou também a correlação entre os níveis de IL-6 e os tempos de circulação extracorpórea e pinçamento aórtico, doses de norepinefrina e epinefrina usadas no pós-operatório e pressão média da artéria pulmonar (69). Os achados destes estudos sugerem que mediadores inflamatórios como as citocinas podem estar associados a disfunção miocárdica transitória do pós-operatório de revascularização miocárdica, porém não permitem estabelecer a seqüência de eventos, ou seja, se a resposta inflamatória representa uma causa ou uma consequência da depressão miocárdica pós-operatória. Neste sentido, vários estudos experimentais tem demonstrado que as citocinas são capazes de induzir síntese de óxido nítrico sintase, que por sua vez, parece modular a resposta dos miócitos à estimulação de receptores muscarínicos e beta-adrenérgicos, causando uma redução na resposta contrátil aos agonistas beta-adrenérgicos. Assim, o real impacto das citocinas como causadoras de depressão ventricular merece maiores investigações (74,75,77,81,82).

No presente estudo não foi possível estabelecer uma correlação significativa entre os níveis plasmáticos das citocinas dosadas e a fração de ejeção no pós-operatório. Entretanto, os pacientes que apresentaram piora da fração de ejeção em 24 horas demonstraram uma tendência a apresentar maiores valores plasmáticos de TNF- $\alpha$  e seu receptor solúvel I em 3 horas após o início da circulação extracorpórea, tendo a diferença entre os grupos apresentado uma significância estatística limítrofe. Assim, a redução da

fração de ejeção entre o pré-operatório e o primeiro dia de pós-operatório observada em nosso estudo poderia estar associada aos maiores níveis de TNF- $\alpha$  e TNF-RI circulantes após a cirurgia. Estes achados vão ao encontro de relatos prévios demonstrando propriedades cardiodepressoras do TNF- $\alpha$  e também sugerem que o TNF-RI possa estar implicado nesta cardiodepressão (41,74,75,76,77,78).

São poucos os relatos na literatura do valor prognóstico da Tn-I em cirurgias cardíacas. Hirsch e colaboradores estabeleceram correlação entre os níveis de Tn-I no pós-operatório imediato de cirurgias para correção de defeitos cardíacos congênitos e os tempos de circulação extracorpórea e pinçamento aórtico, com a necessidade de suporte inotrópico pós-operatório, tempo de intubação traqueal e de permanência na unidade de terapia intensiva (126). Em nosso estudo não houve diferença entre os níveis séricos de Tn-I nos dois grupos de pacientes, entretanto foi possível estabelecer uma correlação positiva entre os níveis de Tn-I em 8 e 24 horas e os tempos de circulação extracorpórea e pinçamento aórtico, sugerindo que o dano miocárdico é tanto maior quanto maior o tempo de isquemia miocárdica. Resultados semelhantes foram obtidos por Etievent e colaboradores que demonstraram uma maior elevação da Tn-I quanto maior o tempo de pinçamento aórtico (116). Outros estudos clínicos e experimentais também estabeleceram esta correlação (117,118,119). No presente estudo também houve correlação entre a fração de ejeção de 24 horas de pós-operatório e os níveis séricos de troponina-I de 8 horas após a circulação extracorpórea, indicando que quanto maior os níveis deste marcador biológico tanto pior a função ventricular esquerda no primeiro dia de pós-operatório. Não investigamos fatores prognósticos tais como, necessidade de suporte inotrópico, tempo de internação hospitalar e complicações pós-operatórias, visto que estudamos pacientes de baixo risco para cirurgia cardíaca onde a ocorrência de eventos adversos é pequena, exigindo uma amostra maior de pacientes para avaliação destes desfechos.

### **Limitações do estudo**

Os resultados deste estudo aplicam-se a um grupo específico de pacientes submetidos à revascularização miocárdica com circulação extracorpórea, ou seja, aqueles pacientes considerados de mais baixo risco para este tipo de procedimento. Além disso, o

estudo visa estabelecer uma correlação entre a disfunção ventricular pós-operatória e os níveis de citocinas e troponina no sangue, sem contudo determinar uma relação de causa-efeito entre estas variáveis.

Por limitações técnicas não avaliamos a fração de ejeção no período de maior depressão ventricular (2 a 6 horas após a circulação extracorpórea), entretanto identificamos um grupo de pacientes que persistiram com algum grau de depressão ventricular nas primeiras 24 horas de pós-operatório e teoricamente poderiam estar sobre maior influência da resposta inflamatória pós-operatória.

O tamanho da amostra estudada pode ter limitado os achados em relação ao TNF- $\alpha$  e seu receptor solúvel I, determinando achados de significância estatística limítrofe.

O uso de conjuntos de dosagem de alta sensibilidade para interleucina-6 limitou a interpretação dos resultados desta citocina.

É importante salientar que todas as dosagens de citocinas e troponina-I foram realizadas em duplicata, e a variação dos resultados entre as duplicatas foi inferior a 10 % para todas as amostras. Todas as amostras foram analisadas em conjunto e simultaneamente para cada citocina em estudo, com a finalidade de evitar a variação inter-ensaio. Apesar destes cuidados técnicos é necessário ressaltar a possibilidade de falhas nas dosagens através do método de ELISA decorrentes de limitações intrínsecas desta técnica laboratorial.

Em conclusão, os dados apresentados demonstram que pacientes submetidos à revascularização miocárdica com circulação extracorpórea com fração de ejeção superior à 40% no pré-operatório, sem patologias associadas e sem complicações maiores no pós-operatório apresentam elevação dos níveis circulantes de TNF- $\alpha$ , TNF-RI, TNF-RII, IL-6 e Tn-I no pós-operatório. A elevação das citocinas não correlaciona-se de forma significativa com a fração de ejeção no pós-operatório. Entretanto, existe uma tendência de que pacientes com redução da fração de ejeção em 24 horas de pós-operatório apresentem maiores valores plasmáticos de TNF- $\alpha$  e TNF-RI três horas após o início da circulação extracorpórea. Os níveis séricos de troponina-I em 8 e 24 horas após à cirurgia correlacionam-se com os tempos de circulação extracorpórea e pinçamento aórtico, indicando maior lesão cardíaca quanto maior o tempo de isquemia miocárdica

transoperatória. A troponina-I de 8 horas após a cirurgia correlaciona-se inversamente com a fração de ejeção do ventrículo esquerdo de 24 horas de pós-operatório, indicando uma pior função ventricular esquerda para os pacientes com maiores níveis de troponina-I.

## CONCLUSÕES

1. A disfunção ventricular, de etiologia provavelmente multifatorial, ocorre no pós-operatório de cirurgias cardíacas e pode persistir em alguns pacientes nas primeiras 24 horas após a cirurgia, mesmo na ausência de complicações.
2. A cirurgia de revascularização miocárdica com circulação extracorpórea determina uma resposta imunoinflamatória que pode ser reconhecida pela elevação dos níveis sanguíneos das citocinas (TNF- $\alpha$ , receptores solúveis I e II do TNF- $\alpha$  e interleucina-6).
3. A troponina-I é um marcador sensível da lesão miocárdica perioperatória, sofrendo elevação sanguínea após a cirurgia de revascularização miocárdica, mesmo naqueles pacientes sem diagnóstico de infarto agudo do miocárdio.
4. Não há correlação significativa entre os níveis plasmáticos de citocinas (TNF- $\alpha$ , receptores solúveis I e II do TNF- $\alpha$  e interleucina-6) e a fração de ejeção no pós-operatório.
5. Há correlação positiva entre os níveis séricos de troponina-I no pós-operatório e os tempos de pinçamento aórtico e circulação extracorpórea. Da mesma forma, há correlação inversa deste marcador e a fração de ejeção em 24 de pós-operatório.



## ESTUDOS FUTUROS

1. Avaliar os mesmos parâmetros em uma amostra maior de pacientes, buscando não só a associação das citocinas e troponina-I com a fração de ejeção, mas também com os resultados pós-operatórios. Desta forma, obteremos informações mais consistentes do valor prognóstico destes marcadores.
2. Estudar o comportamento da resposta imunoinflamatória e troponina-I em pacientes com disfunção ventricular prévia à cirurgia, bem como em pacientes que desenvolvam complicações pós-operatórias.
3. Estudar a resposta imunoinflamatória em pacientes submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica sem circulação extracorpórea, a fim de estabelecer o grau de importância da circulação extracorpórea na geração desta resposta.
4. Realizar estudos com diferentes locais de coleta dos marcadores biológicos (seio coronariano, artéria pulmonar, sangue periférico) a fim de determinar o local principal de sua liberação.

## ANEXO I

### CONSENTIMENTO INFORMADO

**NOME DO ESTUDO - Perfil imunoinflamatório e dosagem de troponina-I após cirurgia de revascularização miocárdica com circulação extracorpórea: implicações sobre a função ventricular esquerda**

**RESPONSÁVEIS PELO PROJETO - Neverton Savaris e Nadine Clausell**

#### 1. OBJETIVOS DESTE ESTUDO

A finalidade deste estudo é entender melhor os efeitos da circulação extracorpórea (uma máquina usada para manter a circulação durante a cirurgia) sobre o coração nas cirurgias de revascularização do miocárdio.

Para tanto várias substâncias liberadas no sangue durante a cirurgia serão dosadas. Nós procuraremos com isto avaliar o funcionamento do coração após a cirurgia.

#### 2. EXPLICAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

O senhor sofrerá todas as rotinas perioperatórias para cirurgia cardíaca realizadas no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Utilizando-se a linha arterial, que faz parte da monitorização de rotina para este tipo de procedimento, será coletado 20 ml de sangue em diferentes tempos, durante e após a cirurgia, perfazendo um total de 4 coletas desde o início da cirurgia até 24 horas após o seu término.

Será realizada ventriculografia radioisotópica, para avaliar o funcionamento do coração, antes da cirurgia, 24 horas após o seu término e no sétimo dia de pós-operatório.

A rotina do Hospital será mantida, pois não interferiremos em nenhum momento na anestesia, cirurgia ou tratamento clínico.

A sua participação é voluntária. Se concordar as amostras de sangue poderão ser colhidas e a ventriculografia com radioisótopos poderá ser realizada.

### 3. POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS

Os possíveis riscos deste estudo incluem a exposição a radiação para realização da ventriculografia do coração, que não é maior que a radiação liberada para realização de uma radiografia de tórax, e a necessidade de deslocamento da unidade de terapia intensiva até o local onde este exame será realizado, sendo feito sempre com acompanhamento médico.

As amostras de sangue serão retiradas através de um dispositivo intra-arterial que faz parte da monitorização de rotina deste tipo de cirurgia, não trazendo nenhum desconforto além do habitual.

Quanto a categoria de risco, a pesquisa pode ser categorizada com risco mínimo segundo “Aspectos Éticos da Pesquisa em seres humanos.”

### 4. POSSÍVEIS BENEFÍCIOS DESTE ESTUDO

Se confirmada clinicamente a associação entre a elevação destas substâncias após a circulação extracorpórea e a disfunção do coração no pós-operatório de cirurgias cardíacas abre-se caminho para novas intervenções na proteção miocárdica relacionadas com o bloqueio da resposta imunoinflamatória.

### 5. EXCLUSÃO DO ESTUDO

O investigador responsável pode excluí-lo(a) do estudo, sem o seu consentimento, quando julgar necessário, para o melhor encaminhamento do seu caso ou se ele(a) não cumprir o programa estabelecido.

### 6. DIREITO DE DESISTÊNCIA

O senhor(a) pode desistir de participar a qualquer momento. Sua decisão de não participar ou de deixar a pesquisa depois de iniciada não afetará o atendimento médico posterior.

### 7. SIGILO

Todas as informações obtidas deste estudo, bem como do prontuário do paciente, podem ser publicados exclusivamente com finalidade científica, mantendo-se o anonimato.

## 8. CONSENTIMENTO

Declaro ter lido - ou me foi lido - as informações acima antes de assinar este formulário. Foi-me dada ampla oportunidade de fazer perguntas, esclarecendo plenamente minhas dúvidas.

Se persistirem dúvidas ou houver necessidade de mais esclarecimentos sobre o projeto, pode contatar com Dr Neverton Savaris, médico anesthesiologista do Serviço de Anestesia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, no 13º andar ou através do telefone 331-6699 ramal 2226.

Por este instrumento, tomo parte, voluntariamente, do presente estudo.

Porto Alegre, de \_\_\_\_\_ de 199 .

---

Assinatura do paciente

---

Assinatura do pesquisador responsável

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Martin DE, Hensley FA, Chambers CE, Luck JC. The cardiac patient. In: Hensley FA and Martin DE- *A practical approach to cardiac anesthesia*, 2<sup>nd</sup> ed, New York, Little, Brown and Company, 1995;3-31.
2. Hug CC. Anestesia para cirurgia cardíaca no adulto. Em: Miller RD- *Anestesia*, 3<sup>o</sup> ed, São Paulo, Livraria Editora Artes Médicas, 1993;1605-1652.
3. Lillebei CW. Historical development of cardiopulmonary bypass. In: Graville G, Davis RF, Utley JR- *Cardiopulmonary bypass: principles and practice*, Baltimore, Williams & Wilkins, 1993;1-26.
4. Kirklin JK, George JF, Holman W. The inflammatory response to cardiopulmonary bypass. In: Graville G, Davis RF, Utley JR- *Cardiopulmonary bypass: principles and practice*, Baltimore, Williams & Wilkins, 1993;233-248.
5. Hannan EL, Kumar D, Racz M et al. New York State's cardiac surgery reporting system: four years later. *Ann Thorac Surg* 1994;58:1852-1857.
6. Butler J, Rocker GM, Westaby S. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993;55:552-559.
7. Verstraete M. Clinical application of inhibitors of fibrinolysis. *Drugs* 1985;29:236-261.
8. Levy JH, Kelly AB. Inflammation and cardiopulmonary bypass. *Can J Anaesth* 1993;40:1009-1015.
9. Menasché P. The inflammatory response to cardiopulmonary bypass and its impact on postoperative myocardial function. *Current Opinion in Cardiology* 1995;10:597-604.

10. Verska JJ. Control of heparinization by activated clotting time during bypass with improved post-operative hemostasis. *Ann Thorac Surg* 1977;24:170-173.
11. Backmann F, McKenna R, Cole ER, Najafi H. The hemostatic mechanism after open-heart surgery: Studies on plasma coagulation factors and fibrinolysis in 512 patients after extracorporeal circulation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1975;70:76-85.
12. Ellison N, Behar M, MacVaugh H, Marshall BE. Bradykinin, plasma protein fraction and hypotension. *Ann Thorac Surg* 1980;29:15-19.
13. Pang LM, Stalcup SA, Lipset JS, Hayes CJ, Bowman FO Jr, Mellins RB. Increased circulating bradykinin during hypothermia and cardiopulmonary bypass in children. *Circulation* 1979;60:1503-1507.
14. Chenoweth DE, Cooper SW, Hugli TE et al. Complement activation during cardiopulmonary bypass: evidence for generation of C3a and C5a anaphylatoxins. *N Engl J Med* 1981;304:497-503.
15. Kirklin JK, Chenoweth DE, Naftel DC et al. Effects of protamine administration after cardiopulmonary bypass on complement, blood elements and hemodynamic state. *Ann Thorac Surg* 1986;41:193-199.
16. Kirklin JK, Westaby S, Blackstone EH et al. Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983;86:845-857.
17. Hansen PR. Role of neutrophils in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation* 1995;91:1872-1885.
18. Lowry SF. Cytokine mediators of immunity and inflammation. *Arch Surg* 1993;27:1184-1190.

19. Kelso A. Cytokinas: structure, function and synthesis. *Current Opinion in Immunology* 1989;2:215-225.
20. Williams G, Giroir BP. Regulation of cytokine gene expression: tumor necrosis factor, interleukin-1, and the emerging biology of cytokine receptors. *New Horizons* 1995;3:276-287.
21. Fong Y, Moldawer LL, Shires GT. The biologic characteristics of cytokines and their implication in surgical injury. *Surg Gynecol Obstet* 1990;170:363-378.
22. Cruickshank AM, Fraser WD, Burns HJG, Van Damme J, Shenkin A. Response of serum interleukin-6 in patients undergoing elective surgery of varying severity. *Clin Science* 1990;79:161-165.
23. Parry-Billings M, Baigrie RJ, Lamont PM, Morris PJ, Newsholme EA. Effects of major and minor surgery on plasma glutamine and cytokine levels. *Arch Surg* 1992;127:1237-1240.
24. Steinberg JB, Kapelanski DP, Olson JD, Weiler JM. Cytokine and complement levels in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;106:1008-1016.
25. Finn A, Naik S, Klein N, Levinsky RJ et al. Interleukin-8 release and neutrophil degranulation after pediatric cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;105:234-241.
26. Kawamura T, Wakusawa R, Okada K, Inada S. Elevation of cytokines during open heart surgery with cardiopulmonary bypass: participation of interleukin 8 and 6 in reperfusion injury. *Can J Anaesth* 1993;40:1016-1021.
27. Menasché P, Haydar S, Peynet J, Du Buit C et al. A potential mechanism of vasodilation after warm heart surgery: the temperature-dependent release of cytokines. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;107:293-299.

28. Seghaye MC, Duchateau J, Bruniaux J, Demontoux S et al. Interleukin-10 release related to cardiopulmonary bypass in infants undergoing cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;111:545-553.
29. Frering B, Philip I, Dehoux M, Rolland C et al. Circulating cytokines in patients undergoing normothermic cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;108(4):636-641.
30. Cavaillon NH, Rousselier N, Ponzio O, Carreno MP et al. Induction of interleukin-1 production in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989;98:1100-1106.
31. Miller BE, Levy JH. The inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1997;11:355-366.
32. Tracey KJ, Vlassara H, Cerami A. Cachectin/ Tumour necrosis factor. *Lancet* 1989;20:1122-1125.
33. Hall RI, Smith MS, Rocker G. The systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass: pathophysiological, therapeutic, and pharmacological considerations. *Anesth Analg* 1997;85:766-782.
34. Kharazmi A, Andersen LW, Baek L, Valerius NH, Laub M, Rasmussen JP. Endotoxemia and enhanced generation of oxygen radicals by neutrophils from patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 19889;98:381-385.
35. Nilsson L, Kulander L, Nystrom SO, Eriksson O. Endotoxins in cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990;100:777-780.
36. Taggart DP, Sundaram S, McCartney C, Bowman A, McIntyre H, Courtney JM, Wheatley DJ. Endotoxemia, complement, and white blood cell activation in cardiac



- surgery: a randomized trial of laxatives and pulsatile perfusion. *Ann Thorac Surg* 1994;57:376-382.
37. Ohri SK, Becket J, Brannan J, Keogh BE, Taylor KM. Effects of cardiopulmonary bypass on gut blood flow, oxygen utilization, and intramucosal pH. *Ann Thorac Surg* 1994;57:1193-1199.
38. Andersen LW, Baek L, Degn H, Lehd J, Krasnik M, Rasmussen JP. Presence of circulating endotoxins during cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987;93:115-119.
39. Rocke DA, Gaffin SL, Wells MT, Koen Y, Brock-Utine JG. Endotoxemia associated with cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987;93:832-837.
40. Mann DL, Young JB. Basic mechanisms in congestive heart failure: recognizing the role of proinflammatory cytokines. *Chest* 1994;105:897-904.
41. Ferrari R, Corti A, Bachetti T. Tumor necrosis factor alpha in heart failure. *Heart Failure* 1995;aug/sep:142-149.
42. Baigrie RJ, Lamont PM, Kwiatkowski D, Dallman MJ, Morris PJ. Systemic cytokine response after major surgery. *Br J Surg* 1992;79:757-760.
43. Roumen RMH, Hendriks T, van der Ven-Jongekrijg J, Nieuwenhuijzen GAP, Sauerwein RW et al. Cytokine patterns in patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock, and severe blunt trauma: relation with subsequent adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure. *Ann Surg* 1993;218:769-776.
44. Oka Y, Murata A, Nishijima J, Yasuda T, Hiraoka N et al. Enhanced attachment and elastase-releasing capacity of neutrophils after surgery. *Am J Surg* 1994;167:405-511.
45. Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 1990;346:425-434.

46. Adams DH, Nash GB. Disturbance of leucocyte circulation and adhesion to the endothelium as factors in circulatory pathology. *Br J Anaesth* 1996;77:17-31.
47. Zimmerman BJ, Holt JW, Paulson JC, Anderson DC, Miyasaka M, Tamatani T, Todd RF III, Rusche JR, Granger DN. Molecular determinants of lipid mediator-induced leukocyte adherence and emigration in rat mesenteric venules. *Am J Physiol* 1994;266:847-853.
48. Biffi WL, Moore EE. Splanchnic ischaemia/ reperfusion and multiple organ failure. *Br J Anaesth* 1996;77:59-70.
49. McEver RP. Leukocyte interactions mediated by selectins. *Thromb Haemost* 1991;66:80-87.
50. Seghaye MC, Duchateau J, Grabitz RG, Faymonville ML, Messmer BJ, Buro-Rathsmann K, von Bernuth G. Complement activation during cardiopulmonary bypass in infants and children: relation to postoperative multiple system organ failure. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;106:978-987.
51. Braude S, Nolop KB, Fleming JS, Krausz T, Taylor KM, Royston D. Increased pulmonary transvascular protein flux after canine cardiopulmonary bypass: association with lung neutrophil sequestration and tissue peroxidation. *Am Rev Respir Dis* 1986;134:867-872.
52. Lell WA. Myocardial protection during cardiopulmonary bypass. In: Kaplan JA. *Cardiac Anesthesia*. WB Saunders Company, Philadelphia, 1993;1030-1057.
53. Johansen JV, Hammon JW. Myocardial protection during cardiac surgery. In: Graville G, Davis RF, Utley JR. *Cardiopulmonary bypass: principles and practice*. Williams & Wilkins, Baltimore, 1993;155-206.

54. Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circulation* 1982;66:1146-1149.
55. Mangano DT. Biventricular function after myocardial revascularization in humans: deterioration and recovery patterns during the first 24 hours. *Anesthesiology* 1985;62:571-577.
56. Breisblatt WM, Stein KL, Wolfe CJ, Follansbee WP, Capozzi J, Armitage JM, Hardesty RL. Acute Myocardial dysfunction and recovery: a common occurrence after coronary bypass surgery. *J Am Coll Cardiol* 1990;15:1261-1269.
57. Phillips HR, Carter JE, Okada RD, Levine FH, Boucher CA et al. Serial changes in left ventricular ejection fraction in the early hours after aortocoronary bypass grafting. *Chest* 1983;83:28-34.
58. Roberts AJ, Spies SM, Meyers SN, Moran JM, Sanders JH et al. Early and long-term improvement in left ventricular performance following coronary bypass surgery. *Surgery* 1990;88:467-475.
59. Elvio C, Luigi M, Ludovico F, Fabio CM, Alessandro C et al. Severe myocardial dysfunction and coronary revascularization. *Jpn Circ J* 1997;61:850-854 (abstract).
60. Wallace A, Lam HW, Nosé PS, Bellows W, Mangano DT. Changes in systolic and diastolic ventricular function with cold cardioplegic arrest in man. The Multicenter Study of Perioperative Ischemia (McSPI) Research Group. *J Card Surg* 1994;9:497-502.
61. Simon P, Mohl W, Neumann F, Owen A, Punzengruber C, Wolner E. Effects of coronary artery bypass grafting on global and regional myocardial function. An intraoperative echocardiographic assessment. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;104:40-45.

62. Lazar HL, Plehn JF, Schick EM, Dobnick D, Shemin RJ. Effects of coronary revascularization on regional wall motion. An intraoperative two-dimensional echocardiographic study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989;98:498-505.
63. Yamauchi TK, Ihara Y, Ogata A, Yoshizaki K, Azuma J, Kishimoto T. Hypoxic stress induces cardiac myocyte-derived interleukin-6. *Circulation* 1995;91:1520-1524.
64. Torre-Amione G, Kapadia S, Benedict C, Oral H, Young JB, Mann DL. Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *J Am Coll Cardiol* 1996;27:1201-1206.
65. Billiau A, Vandekerckhove F. Cytokines and their interactions with other inflammatory mediators in the pathogenesis of sepsis and septic shock. *Eur J Clin Invest* 1991;21:559-573.
66. Cunnion RE, Parrillo JE. Myocardial dysfunction in sepsis: recent insights. *Chest* 1989;95:941-945.
67. Maury CP, Teppo AM. Circulating tumour necrosis factor-alpha (cachectin) in myocardial infarction. *J Intern Med* 1989;225:333-336.
68. Zerbe TR. Contrast of mediators: identification of cells and cytokines in human heart tissue with acute rejection and myocarditis. *Transplant Proc* 1989;21:443-444.
69. Deng MC, Dasch B, Erren M, Mollhoff T, Scheld HH. Impact of left ventricular dysfunction on cytokines, hemodynamics, and outcome in bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 1996;62:184-190.

70. Hennein HA, Ebba H, Rodriguez JL, Merrick SH et al. Relationship of the proinflammatory cytokines to myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994, 108:626-635.
71. Mocek FW, Edwards M, Austin E. Interleukin-6 and low cardiac output syndrome following pediatric cardiac surgery (abstract). *Circulation* 1994;90(pt2):I-1361.
72. te Velthuis H, Jansen PG, Oudemans van Straaten HM, Sturk A, Eijnsman L, Wildevuur CR. Myocardial performance in elderly patients after cardiopulmonary bypass is suppressed by tumor necrosis factor. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;110:1663-1669.
73. Levine B, Kalman J, Mayer L, Fillit HM, Packer M. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *N Engl J Med* 1990;323:236-241.
74. Ungureanu LD, Balligand JL, Kelly RA, Smith TW. Myocardial contractile dysfunction in the systemic inflammatory response syndrome: role of a cytokine-inducible nitric oxide synthase in cardiac myocytes. *J Mol Coll Cardiol* 1995;27:155-167.
75. Schulz R, Panas DL, Catena R, Moncada S, Olley PM, Lopaschuk GD. The role of nitric oxide in cardiac depression induced by interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha. *Br J Pharmacol* 1995;114:27-34.
76. Stein B, Frank P, Schmitz W, Scholz H, Thoenes M. Endotoxin and cytokines induced direct cardiodepressive effects in mammalian cardiomyocytes via induction of nitric oxide synthase. *J Mol Coll Cardiol* 1996;28:1631-1639.
77. Smith TW, Balligand JL, Kaye DM, Wiviott SD, Simmons WW, Han X, Michel T, Singh K, Kelly RA. The role of the NO pathway in the control of cardiac function. *J Card Fail* 1996;2:suppl 4, S141-147.
78. Nosé PS. Cytokines and reperfusion injury. *J Card Surg* 1993;8:305-308.

79. Torre-Amione G, Kapadia S, Lee J, Bies RD, Lebovitz R, Mann DL. Expression and functional significance of tumor necrosis factor receptors in human myocardium. *Circulation* 1995;92:1487-1493.
80. Oral H, Kapadia S, Torre-Amione G, Lee J, Lee JD, Young JB, Mann DL. Tumor necrosis factor-alpha and the failing human heart. *Clin Cardiol* 1995;18:9 suppl 4,IV 20-27.
81. Finkel MS, Oddis CV, Jacob TD, Watkins SC et al. Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. *Science* 1992;257:387-389.
82. Kinugawa KI, Takahashi T, Kohmoto O et al. Nitric oxide-mediated effects of interleukin-6 on  $Ca^{++}$ i and cell contraction in cultured chick ventricular myocytes. *Circ Res* 1994;75:285-295.
83. Jansen NJG, Oeveren W, Broek Lvd, Straaten HMO, Soutenbeek CP. Inhibition by dexamethasone of the reperfusion phenomena in cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991;102:515-525.
84. Engelman RM, Rousou JA, Flack JE, Deaton DW et al. Influence of steroids on complement and cytokine generation after cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1995;60:801-804.
85. Journois D, Pouard P, Greeley WJ, Mauriat PH et al. Hemofiltration during cardiopulmonary bypass in pediatric cardiac surgery. *Anesthesiology* 1994;81:1181-1189.
86. Hill GE, Alonso A, Spurzem JR, et al. Aprotinin and methylprednisolone equally blunt cardiopulmonary bypass-induced inflammation in humans. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;110:1658-1662.

87. Verrier ED, Shen I. Potential role of neutrophil anti-adhesion therapy in myocardial stunning, myocardial infarction, and organ dysfunction after cardiopulmonary bypass. *J Card Surg* 1993;8:309-312.
88. Chiba Y, Morioka K, Muraoka R, Ihaya A, Kimura T, Uesaka T, Tsuda T, Matsuyama K. Effects of depletion of leukocytes and platelets on cardiac dysfunction after cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1998;65:107-114.
89. Prasad K, Chan WP, Bharadwaj B. Superoxide dismutase and catalase in protection of cardiopulmonary bypass-induced cardiac dysfunction and cellular injury. *Can J Cardiol* 1996;12:1083-1091.
90. Davies MJ, Nguyen K, Gaynor JW, Elliott MJ. Modified ultrafiltration improves left ventricular systolic function in infants after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998;115:361-369.
91. Wilson I, Gillinov AM, Curtis WE, DiNatale J, Burch RM, Gardner TJ, Cameron DE. Inhibition of neutrophil adherence improves postischemic ventricular performance of the neonatal heart. *Circulation* 1993;88:5 pt2,II372-379.
92. Wilson I, Gillinov AM, Curtis WE, DiNatale J, Burch RM, Gardner TJ, Cameron DE. Temporary leukocyte depletion reduces ventricular dysfunction during prolonged postischemic reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;106:805-810.
93. Wilson I, Gillinov AM, Curtis WE, DiNatale J, Burch RM, Gardner TJ, Cameron DE. Leukocyte depletion in a neonatal model of cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 1993;55:12-19.
94. Adams III JE, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury: is MB creatine kinase the choice for the 1990s ?. *Circulation* 1993;88:750-763.

95. Schreiber WE. Laboratory assessment of myocardial damage: which test is best? *Am J Clin Pathol* 1997;107:383-384 (editorial).
96. Adams JE, Bodor GS, Dávila-Román VG, Sicard GA, Ladenson JH. Improved detection of perioperative myocardial infarction with cardiac troponin I. *J Am Coll Cardiol* 1993;21:88 (abstract).
97. Cummins P, Youn A, Auckland ML, Michie CA, Stone PCW, Shepstone BJ. Comparison of serum cardiac specific troponin-I with creatine kinase, creatine kinase-MB isoenzyme, tropomyosin, myoglobin and C-reactive protein release in marathon runners: cardiac or skeletal muscle trauma? *Eur J Clin Invest* 1987; 17:317-324.
98. Cummins B, Cummins P, Auckland ML. Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction: *Am Heart J* 1987;113:1333-1344.
99. Bodor GS, Porterfield D, Voss EM, Smith S, Apple FS. Cardiac troponin-I is not expressed in fetal and healthy or diseased adult human skeletal muscle tissue. *Clin Chem* 1995;41:1710-1715.
100. Keffer JH. The cardiac profile and proposed practice guideline for acute ischemic heart disease. *Am. J Clin Pathol* 1997;107:398-409.
101. Anderson PAW, Malouf NN, Oakeley AE, Pagani ED, Allen PD. Troponin T isoform expression in humans: a comparison among normal and failing adult heart, fetal heart, and adult and fetal skeletal muscle. *Circulation* 1991;69:1226-1233.
102. Katus HA, Remmpis A, Scheffold T et al. Intracellular compartmentation of cardiac troponin T and its release kinetics in patients with reperfused and non reperfused myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1991;67:1360-1367.



103. Hafner G, Thome-Kromer B, Schaube J et al. Cardiac troponins in serum in chronic renal failure. *Clin Chem* 1994;40:1790-1791.
104. Li D, Keffer J, Corry K, Vazquez M, Jialal I. Nonspecific elevation of troponin T levels in patients with chronic renal failure. *Clin Biochem* 1995;28:474-477.
105. Braun SL, Baum H, Neumeier D, Vogt W. Troponin T and troponin I after coronary artery bypass grafting: discordant results in patients with renal failure. *Clin Chem* 1996;42:781-783 (*letter*).
106. Baum H, Braun S, Gerhardt W, Gilson G, Hafner G, et al. Multicenter evaluation of a second-generation assay for cardiac troponin T. *Clin Chem* 1997;43:1877-1884.
107. Mair J, Morandell D, Genser N, Lechleitner P, Dienstl F, Puschendorf B. Equivalent early sensitivities of myoglobin, creatine kinase MB mass, creatine kinase isofom ratios, and cardiac troponins I and T for acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1995;41:1266-1272.
108. Montague C, Kircher T. Myoglobin in the early evaluation of acute chest pain. *Am J Clin Pathol* 1995;104:472-476.
109. Puelo PR, Meyer D, Wathen C et al. Use of a rapid assay of subforms of creatine kinase MB to diagnose or rule out acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1994;331:561-566.
110. Wu AHB, Lane PL. Metaanalysis in clinical chemistry: validation of cardiac troponin T as a marker for ischemic heart diseases. *Clin Chem* 1995;41:1228-1233.
111. Wu AHB. Use of cardiac markers as assessed by outcomes analysis. *Clin Biochem* 1997;30:339-350.

112. Adams JE III, Bodor GS, Dávila-Román VG, Sicard GA, Ladenson JH et al. Diagnosis of perioperative myocardial infarction with measurement of cardiac troponin I. *N Engl J Med* 1994;330:670-674.
113. Mair J, Larue C, Mair P, Balogh D, Calzolari C, Puschendorf B. Use of cardiac troponin I to diagnose perioperative myocardial infarction in coronary artery bypass grafting. *Clin Chem* 1994;40:2066-2070.
114. Sadony V, Korber M, Albes G, Podtschaske V, Etgen T, Trösken T, Ravens U, Scheulen ME. Cardiac troponin I plasma levels for diagnosis and quantitation of perioperative myocardial damage in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 1998;13:57-65.
115. Prellwitz W, Hafner G, Rupprecht HJ, Meyer J. Diagnostic and differential diagnostic value of troponins. *Med Klin* 1996;91:336-342.
116. Etievent JP, Chocron S, Toubin G, Taberlet C, Alwan K, Clement F, Cordier A, Schipman N, Kantelip JP. Use of cardiac troponin I as a marker of perioperative myocardial ischemia. *Ann Thorac Surg* 1995;59:1192-1194.
117. Chocron S, Alwan K, Toubin G, Kantelip B, Clement F, Kantelip JP, Etievent JP. Effects of myocardial ischemia on the release of cardiac troponin I in isolated rat hearts. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;112:508-513.
118. Taggart DP, Hadjinikolas L, Hooper J, Albert J, Kemp M, Hue D, Yacoub M, Lincoln JC. Effects of age and ischemic times on biochemical evidence of myocardial injury after pediatric cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997;113:728-735.
119. Katus HÁ, Schoeppenthau M, Tanzeem A, Bauer HG et al. Non-invasive assessment of perioperative myocardial cell damage by circulating cardiac troponin T. *Br Heart J* 1991;65:259-264.

120. Pelletier LC, Carrier M, Leclerc Y et al. Intermittent antegrade warm versus cold blood cardioplegia: a prospective, randomized study. *Ann Thorac Surg* 1994;58:41-48.
121. Chocron S, Alwan K, Toubin G, Clement F, Kaili D, Taberlet C, Cordier A, Etievent JP. Crystalloid cardioplegia route of delivery and cardiac troponin I release. *Ann Thorac Surg* 1996;62:481-485.
122. Caputo M, Dihmis W, Birdi I, Reeves B, Suleiman MS, Angelini GD, Bryan AJ. Cardiac troponin T and troponin I release during coronary artery surgery using cold crystalloid and cold blood cardioplegia. *Eur J Cardiothorac Surg* 1997;12:254-260.
123. Taggart DP, Bhusari S, Hooper J, Albert J, Kemp M, Magee P, Wright JE, Walesby R. Intermittent ischaemic arrest and cardioplegia in coronary artery surgery: coming full circle? *Br Heart J* 1994;72:136-139.
124. Metzler H, Gries M, Rehak P, Lang T, Fruhwald S, Toller W. Perioperative myocardial cell injury: the role of troponins. *Br J Anaesth* 1997;78:386-390.
125. Riou B, Dreux S, Roche S, Arthaud M, Goarin JP, Leger P, Saada M, Viars P. Circulating cardiac troponin T in potential heart transplant donors. *Circulation* 1995;92:409-414.
126. Hirsch R, Dent CL, Wood MK, Huddleston CB, Mendeloff EN, Balzer DT, Landt Y, Parvin CA, Landt M, Ladenson JH, Canter CE. Patterns and potential value of cardiac troponin I elevations after pediatric cardiac operations. *Ann Thorac Surg* 1998;65:1394-1399.
127. McBride WT, Armstrong MA, Crockard AD, McMurray TJ, Rea JM. Cytokine balance and immunosuppressive changes at cardiac surgery: contrasting response between patients and isolated CPB circuits. *Br J Anaesth* 1995;75:724-733.

128. Girardini E, Roux-Lombard P, Grau GE, Suter P, Gallathi H. The J5 study group and Dayer JM. Imbalance between tumour necrosis factor alpha and soluble TNF receptor levels in severe meningococemia. *Immunology* 1992;76:20-23.
129. Brauner JB, Paoli CL, Brodt SSM, Ordovaz K, Clausell N. Early elevation endotelin-I levels are predictive of mortality in patients with septic shock. *Int Care Med* 1997;23:S51(abstract).
130. Antman EM. Medical management of the patient undergoing cardiac surgery, In: Braunwald E - *Heart Disease*, 4<sup>th</sup> ed, Philadelphia, WB Saunders Company, 1992;1670-1693.