

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CARDIOLOGIA**

**Perfil dos níveis plasmáticos das interleucinas 6 e 8  
em lactentes submetidos à cirurgia cardíaca com  
circulação extracorpórea**

**Dissertação de Mestrado**

**Aluna: Aline Medeiros Botta**

**Orientadora: Silvana Molossi Lawrence**

**Porto Alegre, setembro de 2002**

## Índice

Abreviaturas .....	4
I – Introdução .....	6
1. Introdução à Cardiopatia Congênita.....	6
2. Circulação Extracorpórea .....	7
3. Reação Inflamatória Sistêmica Pós-Circulação Extracorpórea.....	8
3.1 Ativação de Contato .....	10
3.1.1 Cascata Kinina-Kallicreína .....	10
3.1.2 Cascata Fibrinolítica .....	10
3.1.3 Cascata do Complemento.....	11
3.2 Resposta Celular .....	11
3.2.1 Neutrófilos.....	11
3.2.2 Plaquetas.....	13
3.3 Substâncias Vasoativas e Mediadores inflamatórios.....	14
3.3.1 Óxido Nítrico.....	14
3.3.2 Endotelinas.....	15
3.3.3 Citocinas.....	15
3.3.3.1 Fator de Necrose Tumoral.....	16
3.3.3.2 Interleucina-10.....	17
3.3.3.3 Interleucina-6.....	17
3.3.3.4 Interleucina-8.....	19
4. Aspectos Clínicos no Pós-Operatório .....	21
5. Racionalização do Presente Estudo .....	22

II – Hipótese .....	23
III – Objetivos .....	24
IV – Referências Bibliográficas.....	25
V – Artigo em Português.....	34
VI – Artigo em Inglês.....	82

**Abreviaturas**

IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia Estatística
CDC-NCHS	<i>Center for Disease Control – National Center for Health Statistics</i>
CIV	Comunicação inter-ventricular
CEC	Circulação extracorpórea
PO	Pós-operatório
SIRS	<i>Systemic inflammatory response syndrome</i> (Resposta inflamatória sistêmica)
ICAM-1	<i>Intercellular adhesion molecule-1</i> (Molécula de adesão intercelular-1)
ICAM-2	<i>Intercellular adhesion molecule-2</i> (Molécula de adesão intercelular-2)
IL	Interleucina
TNF- $\alpha$	<i>Tumor necrosis factor-alpha</i> (Fator de necrose tumoral-alfa)
NO	<i>Nitric Oxide</i> (Óxido nítrico)
ET	<i>Endothelin</i> (Endotelina)
RVS	Resistência vascular sistêmica
ARDS	<i>Acute respiratory distress syndrome</i> (Síndrome da angústia respiratória)
CK-MB	Creatinina-kinase (fração MB)
UTIP	Unidade de terapia intensiva pediátrica
EDTA	<i>Ethylene diamine tetracetic acid</i> (Ácido etilenodiamino tetraacético)
DMOS	Disfunção de múltiplos órgãos e sistemas
PAM	Pressão arterial média
PVC	Pressão venosa central
PAE	Pressão de átrio esquerdo
PAP	Pressão média da artéria pulmonar

FC	Frequência cardíaca
Sat O2	Saturação percutânea de oxigênio
SPSS	<i>Statistics package for social science</i>
DSAV	Defeito do septo atrioventricular
IL-1ra	<i>Interleukin-1 receptor antagonist</i> (Receptor antagonista da interleucina-1)
TNF- $\alpha$ sr	<i>Tumor necrosis factor-alpha soluble receptor</i> (Receptor solúvel do fator de necrose tumoral-alfa)
VCAM-1	<i>Vascular cellular adhesion molecule-1</i> (Molécula de adesão vascular celular-1)
CPB	<i>Cardiopulmonary bypass</i>
PICU	<i>Pediatric intensive care unit</i>
MOSF	<i>Multiorgan system failure</i>
MAP	<i>Mean arterial pressure</i>
CVP	<i>Central venous pressure</i>
LAP	<i>Left atrial pressure</i>
PAP	<i>Pulmonary artery pressure</i>
HR	<i>Heart rate</i>
O2 Sat	<i>Percutaneous oxygen saturation</i>
AVSD	<i>Atrioventricular septal defect</i>

Nota: várias siglas foram mantidas conforme a língua inglesa por serem assim conhecidas universalmente (em itálico).

## **I - INTRODUÇÃO**

### **1 - Introdução à Cardiopatia Congênita**

No nosso país, no Censo demográfico mais recente realizado em 2000 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), existe uma população de 169.799.170 habitantes. Estima-se que para cada mil nascidos vivos, 8 a 9 apresentarão cardiopatia congênita, sendo que um número considerável destes necessitarão de tratamento cirúrgico ainda no primeiro ano de vida (1). Nos Estados Unidos, segundo dados do CDC-NCHS (Center for Disease Control - National Center for Health Statistics), aproximadamente 4958 crianças nasceram com malformações cardíacas no ano de 2000. Quando cardiopatias simples como comunicações interventriculares (CIV) mínimas são levadas em consideração, a incidência pode aumentar até 19 para cada 1000 nascidos vivos (2).

Atualmente, com os avanços tecnológicos e otimização do manejo cirúrgico e anestésico para utilização de circulação extracorpórea (CEC) em pacientes de baixo peso, as cirurgias para correção definitiva das cardiopatias congênitas tornaram-se o procedimento de escolha na maioria das instituições. Sabe-se que o tratamento corretivo definitivo tem impacto significativo na redução da morbi-mortalidade pelo defeito, assim como nas conseqüências da cardiopatia sobre o desenvolvimento de outros órgãos e sistemas (1,3).

Cardiopatias congênitas críticas, cujo manejo inclui somente tratamento paliativo ou que permanecem sem correção, podem causar danos progressivos e irreversíveis em órgãos vitais como o próprio coração, pulmões e sistema nervoso central. Igualmente, o desarranjo fisiológico cardiovascular interfere com as alterações pós-natais que ocorrem normalmente

como a hiperplasia miocárdica, a angiogênese coronária e o desenvolvimento alveolar e da vasculatura pulmonar (4). Além destas seqüelas anatômicas e funcionais, anormalidades cognitivas e psicomotoras podem estar presentes e limitar o desenvolvimento de crianças com cardiopatias não corrigidas ou que sofrem intervenção somente paliativa (3).

## **2 - Circulação Extracorpórea**

Circulação extracorpórea cardiopulmonar é um termo utilizado para descrever as técnicas nas quais algumas das principais funções do coração e pulmões são temporariamente substituídas por um sistema mecânico para suporte do paciente, enquanto as intervenções cirúrgicas nos sistemas cardiovascular e pulmonar estão sendo realizadas. Em termos simples, este aparato consiste de um dispositivo de bombeamento para levar sangue ao paciente e um oxigenador no qual ocorre a troca gasosa. Praticamente todos sistemas utilizados atualmente têm incorporado um condicionador de temperatura, o qual permite alterações na temperatura do sangue no oxigenador, controlando assim a temperatura corporal do paciente (3).

No começo da década de 1950 ocorreu a primeira tentativa bem sucedida do uso de CEC em humanos. Este procedimento não foi isento de riscos, tendo em vista que os primeiros 40 procedimentos realizados na Clínica Mayo cursaram com uma mortalidade de 40%, primariamente por disfunção pulmonar (5).

Durante a CEC, os pacientes são submetidos a variações importantes, tais como: fluxo sanguíneo não pulsátil, hemodiluição, baixa pressão de perfusão e hipotermia (15 a 32°C), sendo estes muitas vezes responsáveis pelas complicações clínicas encontradas no pós-operatório (PO) de cirurgias cardíacas.

A cirurgia cardíaca com CEC tem-se mostrado capaz de induzir uma reação inflamatória sistêmica (SIRS), clinicamente caracterizada por hipotensão patológica, febre de origem não-infecciosa, coagulação intra-vascular disseminada, edema tecidual difuso, e em casos extremos, falência de múltiplos órgãos. A disfunção pulmonar é a manifestação clínica mais comum de SIRS, porém outros órgãos também são afetados, tais como: miocárdio, trato gastro-intestinal, sistema nervoso central, rins e sistema circulatório (6 - 8).

### **3 - Reação Inflamatória Sistêmica Pós-Circulação Extracorpórea**

A SIRS pode ser iniciada durante a cirurgia cardíaca por inúmeros processos, dentre eles o contato do sangue com a superfície estranha do circuito da CEC, o desenvolvimento de injúria de isquemia e reperfusão e a presença de endotoxina (Fig 1). A extensão e a duração da resposta inflamatória é influenciada por muitos fatores, incluindo agentes farmacológicos usados para diminuir esta reação (por exemplo, corticosteróides), a composição da solução de preenchimento do circuito, a presença de perfusão pulsátil ou não, o uso de filtração mecânica, o tipo de oxigenador, o tipo de circuito da CEC, a temperatura durante a CEC, a utilização de circuitos heparinados ou não, entre diversos outros ainda desconhecidos (9).





### **3.1 - Ativação de Contato**

O contato do sangue com as superfícies bio-incompatíveis do circuito da CEC iniciam três cascatas de proteases plasmáticas que tem a função de destruir antígenos estranhos. Estas cascatas são: kinina-kallicreína, fibrinólise-coagulação e sistema de complemento.

#### **3.1.1 - Cascata Kinina-Kallicreína**

A ativação da cascata kinina-kallicreína leva, no seu final, à liberação de bradicinina, um potente vasodilatador que promove dilatação da musculatura lisa e aumento da permeabilidade capilar (13).

Os produtos desta via também participam da resposta celular pela ativação direta de neutrófilos, os quais liberam enzimas proteolíticas e radicais livres que invadem organismos ou tecidos estranhos, além dos tecidos endógenos adjacentes, afetando seu funcionamento (14).

Somando-se aos efeitos da ativação de contato do sangue com antígenos estranhos durante a CEC, a utilização de heparina, anticoagulante rotineiramente aplicado durante cirurgia cardíaca, diminui a inativação da kallicreína, afetando indiretamente a resposta inflamatória.

#### **3.1.2 - Cascata Fibrinolítica**

Os coágulos de fibrina formados nos sítios de incisão cirúrgica são responsáveis pela manutenção da homeostase durante a cirurgia. A ativação da cascata fibrinolítica culmina com a liberação da protease plasmina, a qual degrada os trombos de fibrina através

da sua digestão. Membros da cascata kinina-kallicreína induzem aumento nos níveis de plasmina.

A degradação de fibrina também é aumentada durante a CEC. Os produtos de sua degradação têm sido implicados na formação de fibrina defeituosa, na disfunção plaquetária e na alteração endotelial resultando em injúria capilar (8).

### **3.1.3 - Cascata do Complemento**

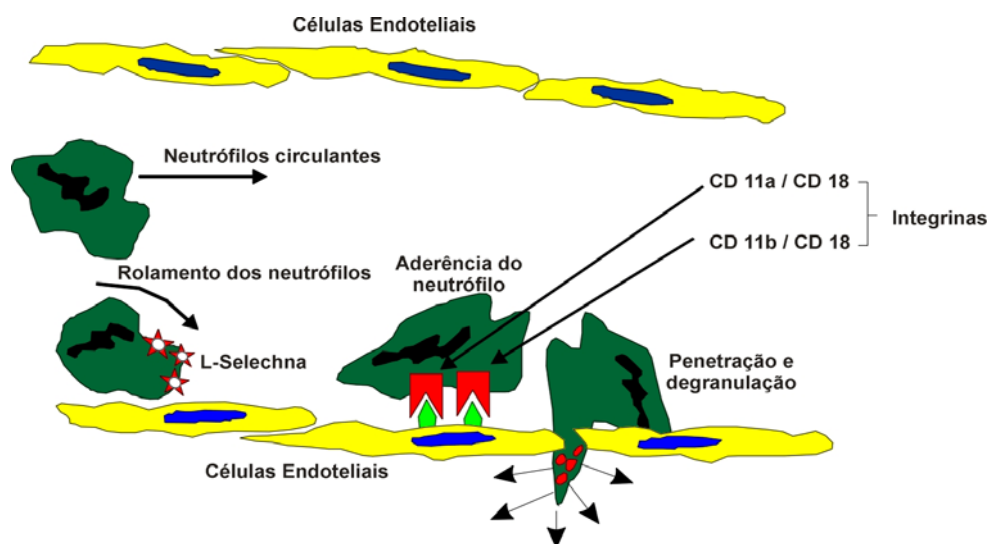
O sistema complemento, composto aproximadamente de 30 proteínas plasmáticas e de membrana, funciona em paralelo com o sistema imune. A sua ativação ocorre através de três cascatas independentes. Todas as três convergem gerando, na sua ativação final, as anafilatoxinas conhecidas com C3 e C5. As anafilatoxinas circulantes C3a e C5a estimulam a liberação de histamina e outros mediadores inflamatórios produzidos por mastócitos e basófilos, levando ao aumento da permeabilidade vascular e contração da musculatura lisa (8,15,16).

## **3.2 - Resposta celular**

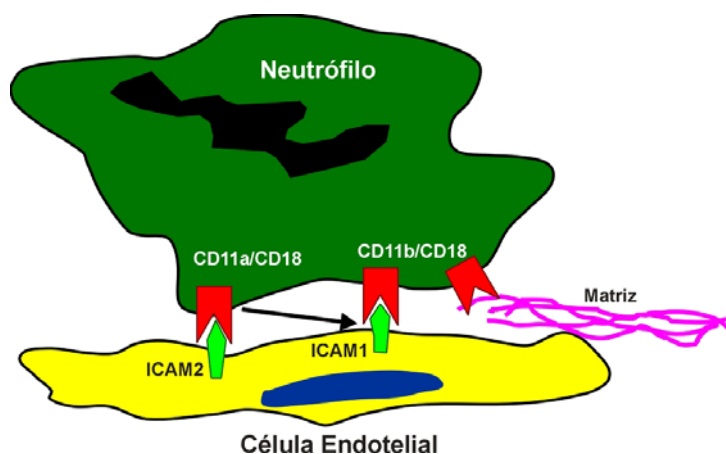
### **3.2.1 - Neutrófilos**

Os neutrófilos respondem aos mediadores inflamatórios solúveis através da aderência ao endotélio vascular, num processo de duas etapas. Primeiramente, os leucócitos circulantes aproximam-se e rolam sobre a superfície endotelial. Três classes de selectinas (L-selectinas: leucócitos, E-selectinas: células endoteliais ativadas, e P-selectinas: células endoteliais e plaquetas) fazem a mediação deste processo. As integrinas, receptores de superfície celular, mediam a aderência firme dos neutrófilos à microvasculatura, através de moléculas de adesão expressas na superfícies das células endoteliais ativadas: a molécula

de adesão intercelular (ICAM) 1 e 2 (14, 17) (Fig 2 e 3). Os neutrófilos ativados liberam depósitos intracelulares de proteínas efetoras presentes em grânulos primários e secundários, a fim de facilitar o processo inflamatório. Elastase, uma das proteases encontradas nos depósitos intracelulares, parece mediar o extravasamento de neutrófilos, a infiltração tecidual e a injúria à célula endotelial (18).



**Figura 2** – Adesão e rolamento dos neutrófilos sobre as células endoteliais. Elliot and Finn. Ann Thorac Surg 1993;56:1503-8.



**Figura 3** – Adesão do neutrófilo através de CD11a/CD18 à ICAM1 e ICAM2 nas células endoteliais e na matriz extracelular. Elliot and Finn. Ann Thorac Surg 1993;56:1503-8.

A CEC tem efeitos dramáticos sobre a função dos leucócitos. Ocorre uma queda imediata no número de leucócitos após o seu início, tanto devido à hemodiluição quanto à adsorção de leucócitos ao circuito da extracorpórea. Segue-se um aumento significativo no número de leucócitos circulantes ao final da CEC, sendo que mais de 50% destes são seqüestrados nos capilares pulmonares após a remoção do clampeamento aórtico. O seqüestro de neutrófilos na vasculatura pulmonar está associado à dano nas células endoteliais e pneumócitos tipo II. Todas estas alterações estão relacionadas ao tempo de duração da CEC e do clampeamento aórtico (8, 19, 20).

### 3.2.2 - Plaquetas

As plaquetas contribuem para a reação inflamatória através da liberação de mediadores como plasminogênio e fibrinogênio. As plaquetas ativadas ligam-se ao

endotélio microvascular e participam do recrutamento de neutrófilos e monócitos através da secreção de interleucina (IL) 8, um recrutador de neutrófilos.

A CEC tem múltiplos efeitos sobre as plaquetas. Os defeitos de hemostasia observados no PO também resultam da diminuição do número e da função das plaquetas pós-CEC. Além disto, aproximadamente 25% a 30% das plaquetas são seqüestradas nos pulmões e baço durante a CEC (8).

### **3.3 – Substâncias Vasoativas e Mediadores Inflamatórios**

O endotélio vascular é reconhecido como uma unidade funcional importante envolvida na regulação do tônus muscular vascular, através da síntese de diversas substâncias vasoativas que promovem relaxamento ou contração das células musculares lisas vasculares. O óxido nítrico é o mais conhecido vasodilatador endotelial, enquanto as endotelinas são os principais fatores de contração derivados do endotélio. É desta forma que o tônus da musculatura vascular lisa é primariamente modulado.

#### **3.3.1 - Óxido Nítrico**

Sob influência de endotoxinas e citocinas, incluindo o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e a IL-1 $\beta$ , a enzima óxido nítrico (NO) sintetase é expressa no endotélio vascular e células musculares lisas, levando ao aumento da produção e liberação de NO. Os efeitos resultantes são: relaxamento da vasculatura muscular lisa (levando à hipotensão), depressão miocárdica e lesão pulmonar (9, 21,22).

A liberação basal de NO pelas células endoteliais ocorre de forma contínua, o que mantém a vasculatura em estado basal relaxado. O NO tem um papel fundamental no PO de cirurgia cardíaca pela sua ação vasodilatadora pulmonar (23, 24).

### **3.3.2 - Endotelinas**

A endotelina (ET) é um potente peptídeo vasoconstrictor e vasopressor do endotélio produzido pelas células endoteliais. Sua identificação ocorreu em 1988. Possui três isoformas: ET-1, ET-2 e ET-3, produzidas em uma variedade de tecidos e células, sendo as endoteliais o principal sítio de geração da ET-1. Esta atua em receptores específicos das células musculares lisas vasculares induzindo, através de canais de cálcio, a contração desta musculatura (25).

Após a CEC, ocorre um aumento dos níveis plasmáticos de ET-1, com um pico entre 3 a 6 horas, sendo que pacientes que apresentam fluxo sanguíneo pulmonar aumentado possuem níveis mais elevados do que os pacientes com fluxo normal (26).

A ET-1 tem um papel na fisiopatologia da hipertensão pulmonar pós-CEC que cursa com reatividade vascular pulmonar aumentada (27). A utilização de antagonistas do receptor da endotelina pode prevenir a hipertensão pulmonar aguda pós-CEC, com maior efeito na redução da resistência vascular pulmonar e menor efeito na redução da resistência vascular sistêmica (RVS) (28).

### **3.3.3 - Citocinas**

As citocinas são proteínas que agem localmente em células-alvo induzindo crescimento, diferenciação, apoptose ou quimiotaxia. Interações sinérgicas entre as citocinas e suas células-alvo amplificam a resposta inflamatória, através da atração de leucócitos ao sítio de injúria e estimulação de liberação adicional de outras citocinas e mediadores inflamatórios. São produzidas por monócitos, macrófagos ativados, células endoteliais, entre outras células. Atuam como um segundo mensageiro, induzindo a síntese e expressão de moléculas de adesão (20).

A IL-1 e o TNF- $\alpha$  são exemplos de citocinas consideradas protótipos de mediadores pró-inflamatórios, sendo importantes mediadores das respostas biológicas a lipopolissacarídes bacterianos, infecções e outras reações inflamatórias (29-31). A liberação de IL-1 e TNF- $\alpha$  produz múltiplos efeitos pró-inflamatórios, incluindo febre, liberação de neuropeptidase, ativação de células endoteliais, aumento da expressão de moléculas de adesão, hipotensão, depressão miocárdica e um estado catabólico (20, 32).

### **3.3.3.1- Fator de Necrose Tumoral Alfa**

Muitos estudos descrevem um aumento nos níveis sistêmicos de TNF- $\alpha$  durante e após a CEC (33-46). Foi claramente demonstrado, através de coleta de amostras de sangue do seio coronário ou de biópsias miocárdicas durante CEC, que o miocárdio pode liberar TNF- $\alpha$  metabolicamente ativo após isquemia global e reperfusão (47).

A natureza da depressão miocárdica induzida pelo TNF- $\alpha$  parece ser bifásica. O TNF- $\alpha$  pode deprimir a responsividade alfa e beta adrenérgica dos miócitos de uma maneira independente do NO, numa fase precoce, e através de um mecanismo dependente do NO, numa fase mais tardia (6). O TNF- $\alpha$  foi mais recentemente apontado como o fator crítico para o início da cascata das citocinas, a qual é responsável pela indução da ICAM-1 e subsequente lesão induzida pelos neutrófilos aderidos ao endotélio através desta molécula. Alguns estudos experimentais mostram que estratégias de inibição da liberação de TNF- $\alpha$  podem reduzir a lesão de isquemia-reperfusão miocárdica, melhorando a função cardíaca. Entretanto, maiores evidências são necessárias para que estes tratamentos tenham utilidade clínica (32).



### **3.3.3.2- Interleucina-10**

A IL-10 é conhecida como citocina anti-inflamatória, visto que ela age suprimindo a produção das IL pró-inflamatórias (IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ ). Possui também uma função cardioprotetora, inibindo a interação neutrófilo-endotélio. Estudos experimentais demonstram que é capaz de diminuir as taxas de mortalidade e o desenvolvimento de lesão pulmonar aguda. Além disto, parece ser capaz de inibir a proliferação de células musculares da vasculatura lisa, representando uma fonte endógena de proteção, principalmente para pacientes pós-revascularização miocárdica (32). A utilização de corticosteróide e de aprotinina no início da CEC podem aumentar a produção de IL-10, a qual origina-se primariamente no fígado durante a CEC (48 -51).

### **3.3.3.3 - Interleucina-6**

O desenvolvimento histórico da IL-6 reflete seu papel multifatorial. Ela já foi descrita de várias formas: interferon- $\beta$ 2, fator 26K, fator 2 estimulador de células B, fator de crescimento de plasmocitoma, fator de crescimento de hibridoma, fator estimulador de hepatócitos ou fator diferenciador de células T citotóxicas. O sequenciamento de aminoácidos e a clonagem destes fatores demonstraram que são todos a mesma substância, sendo coletivamente renomeados de IL-6 (9).

A IL-6, produzida por células T, células endoteliais e monócitos, é mediadora da resposta de fase aguda à injúria. Além disto, contribui para a diferenciação final e secreção de imunoglobulinas pelas células B, assim como ativação de células T. Juntamente com TNF e IL-1 $\beta$ , é conhecida como um pirógeno endógeno. Os estímulos para liberação de IL-6 incluem: endotoxinas, TNF, IL-1 $\beta$ . A IL-6 é usualmente detectável no plasma 30 minutos a 2 horas após o estímulo, com um pico em 4 a 6 horas, precedendo o aparecimento de

proteínas de fase aguda. Isto é consistente com o conceito de que a liberação de IL-6 ocorre tardiamente na cascata inflamatória, e o seu aparecimento é dependente da estimulação da sua síntese por outras citocinas inflamatórias.

A CEC tem sido consistentemente associada a aumento de IL-6, porém este pode ocorrer também após outras grandes cirurgias (8, 31, 34, 35, 38, 40, 47, 52- 60). O papel da IL-6 na alteração da farmacocinética e farmacodinâmica das drogas administradas durante a cirurgia cardíaca com CEC é desconhecido, mas pode ser substancial, visto seu papel como pirógeno, ativador de proteínas de fase aguda e depressor miocárdico (61-62). O miocárdio, após sofrer isquemia e reperfusão, tem sido implicado como a maior fonte de IL-6 durante a CEC (47). Estudos em adultos correlacionaram o aumento inicial de IL-6 pós-CEC com movimentos anormais da parede miocárdica na ecocardiografia transesofágica e com episódios de isquemia ao eletrocardiograma (61).

Extensas investigações recentes tentam desvendar o papel da IL-6 na patogênese da inflamação aguda. Alguns acreditam que a IL-6 possa ser um marcador mais do que um mediador crítico da injúria (6). Na SIRS, o seu exato papel ainda está em debate. É amplamente aceito que a IL-6 circulante é o mais confiável marcador de SIRS, devido ao seu aparecimento precoce e consistente na circulação. Em pacientes com injúria severa ou em pacientes com síndrome da angústia respiratória (ARDS) esta interleucina está elevada, sendo por isto chamada de “citoquina de alarme”, devido à sua excelente correlação com dano tecidual severo (55).

Corbi e colegas (54) analisaram a potencial contribuição do trauma cirúrgico e da CEC na produção de IL-6. Observou-se que em cirurgias cardíacas sem o uso da CEC também ocorreu aumento da IL-6, na mesma magnitude das cirurgias com CEC, levantando

a hipótese de que em cirurgia cardíaca talvez o principal indutor da liberação de IL-6 seja o trauma cirúrgico. Estes achados também foram corroborados por outros autores (32).

O aumento da IL-6 após CEC tende a ocorrer entre 1 e 6 horas após a cirurgia, tanto em adultos como em crianças; entretanto o período de tempo em que este pico ocorre pode variar com a complexidade da cirurgia e o estado do paciente (55). Os níveis séricos de IL-6 já foram correlacionados com inúmeras variáveis da CEC, tais como tempo de clampeamento aórtico, translocação de endotoxinas, nível de creatinina-kinase (fração MB) (CK-MB) no PO, variáveis hemodinâmicas no PO e tempo de duração da CEC, porém os achados não são consistentes entre todos estudos (8, 55, 58).

Tem sido demonstrado que os níveis plasmáticos de IL-6 podem diminuir com o uso de corticosteróide durante a CEC (42, 63-66). Os níveis de IL-6 demonstram uma adequada correlação com SIRS, podendo servir como uma medida terapêutica útil no seu combate, agindo como uma ferramenta na monitorização dos efeitos de futuras intervenções terapêuticas na SIRS pós-CEC.

#### **3.3.3.4 - Interleucina-8**

A IL-8 atua como um potente quimiotático para neutrófilos. Pode ativar neutrófilos assim como linfócitos T e controlar sua movimentação. Outras propriedades atribuídas a IL-8 incluem: regulação da migração transendotelial de neutrófilos, liberação de histamina e injúria pulmonar associada ao seqüestro pulmonar de neutrófilos pós-CEC (9, 32). Estas propriedades sugerem que a IL-8 tenha um importante papel no direcionamento das células polimorfonucleares no desenvolvimento da SIRS após CEC.

Um número considerável de evidências tem documentado que o miocárdio possa ser a principal fonte de IL-8 durante a reperfusão após isquemia prolongada (6) ou após infarto

do miocárdio (47). A ativação do complemento é também conhecida por induzir a expressão de IL-8. É possível que a IL-8 origine-se no leito vascular pulmonar, liberado por células endoteliais ou macrófagos alveolares, aparecendo na circulação apenas após reperfusão dos pulmões (67).

Aumentos nas concentrações plasmáticas de IL-8 tem sido descritos durante a cirurgia cardíaca em adultos e crianças (34, 38, 43, 56, 58, 67-75). Os picos de IL-8 circulantes parecem preceder ou ser coincidentes com os picos de IL-6, sendo suas liberações induzidas por TNF (67). O aparecimento de IL-8 no plasma durante cirurgia cardíaca está associado com um aumento na elastase, uma protease presente nos grânulos lisossomiais dos leucócitos, a qual é liberada em resposta à ativação celular e associada com disfunção orgânica (76).

O aumento dos níveis de IL-8 é sensível a alterações de temperatura, sendo este provocado pela variação da temperatura na CEC, resfriamento e posterior aquecimento (37). As alterações causadas pela IL-8 parecem ocorrer após a CEC (por exemplo, edema por aumento da permeabilidade capilar 12 - 24 horas após a CEC), estando associadas com o período de reaquecimento, sugerindo que este seja necessário para que os processos de ativação bioquímica e celular ocorram (67).

Assim como com a IL-6, evidências que o uso de corticosteróides na indução anestésica possam reduzir os níveis de IL-8 também são descritas na literatura (42, 63-66). Ainda, Grossi e colaboradores sugerem que o uso de circuitos de CEC cobertos com heparina possam causar diminuição da liberação de IL-8 (72).

Informações adicionais na literatura investigando níveis da IL-8 e sua associação com inflamação sistêmica sugerem que este mediador possa servir como marcador de severidade e prognóstico de doenças infecciosas (em pacientes sépticos ou portadores de

infecções por *Pseudomonas*). Altas concentrações de IL-8 também foram encontradas no lavado bronco-alveolar de pacientes com ARDS (70).

#### **4 - Aspectos Clínicos no Período Pós-Operatório**

Atualmente, existem evidências suficientes para associar a CEC com uma generalizada resposta inflamatória sistêmica, a qual é iniciada pela síntese de várias citocinas, incluindo TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8. Os mediadores inflamatórios, a ativação endotelial e as interações neutrófilos-endotélio tem sido reportadas como cruciais na indução da SIRS, causando grandes deslocamentos de volume intravascular, distúrbios de coagulação, aumento de concentração de catecolaminas e hormônios de stress, entre outros efeitos deletérios. Sabe-se que crianças submetidas à cirurgia com CEC para correção de defeitos congênitos apresentam maiores complicações pós-operatórias que adultos, evoluindo muitas vezes para falência de múltiplos órgãos, com resultados finais eventualmente catastróficos (36). Diversos autores tem estudado estratégias na tentativa de reduzir esta resposta inflamatória pós-CEC, seja através de agentes farmacológicos (corticosteróides, inibidores de proteases, imunomodulação) ou de terapias específicas anti-citocinas, como anticorpos contra TNF- $\alpha$  ou seus receptores solúveis (9). É tentador inferir-se que o maior conhecimento do comportamento de tais mediadores inflamatórios neste cenário possa elucidar manobras terapêuticas que acelerem a recuperação da função cardiovascular e, conseqüentemente, de outros órgãos-alvo no organismo ainda em maturação de lactentes e crianças apresentando defeitos cardíacos congênitos.

## **5 - Racionalização do Presente Estudo**

Na literatura, já está claramente estabelecido que ocorre liberação de citocinas, especialmente IL-6 e IL-8, no PO cardíaco de crianças submetidas à CEC. Os diversos estudos, entretanto, apresentam divergências entre si no que se refere ao momento de maior elevação destas citocinas no PO, assim como a sua correlação com variáveis hemodinâmicas ou clínicas. Os estudos realizados em crianças, na sua maioria, tratam de populações bastante heterogêneas, incluindo neonatos até pacientes adolescentes. Sabe-se que esta população pediátrica apresenta respostas a insultos completamente distintos. Desta forma, torna-se interessante observar o comportamento destes mediadores inflamatórios em uma população mais homogênea em termos de idade e onde ocorrem a maioria das cirurgias corretivas para cardiopatias com desarranjo fisiológico significativo, ou seja, no primeiro ano de vida. Outro fato instigador de curiosidade científica é a potencial associação entre seus níveis e desfecho em lactentes submetidos à cirurgia cardíaca corretiva.

## **II - Hipótese**

Os níveis plasmáticos de IL-6 e IL-8 encontram-se aumentados em lactentes submetidos à cirurgia cardíaca com CEC para correção de defeitos cardíacos congênitos e correlacionam-se com seu desfecho clínico.

### **III - Objetivos**

#### **Geral**

Determinar o perfil dos níveis plasmáticos de IL-6 e IL-8 no PO cardíaco de lactentes submetidos à cirurgia cardíaca com CEC para correção de defeitos cardíacos congênitos.

#### **Específicos**

1. Determinar a associação entre níveis plasmáticos de IL-6 e IL-8 e determinantes clínicos: variáveis hemodinâmicas, lactato plasmático e ocorrência de disfunção de múltiplos órgãos e sistemas (DMOS).
2. Determinar a associação entre níveis plasmáticos de IL-6 e IL-8 e o desfecho clínico dos pacientes.
3. Comparar os níveis plasmáticos de IL-6 e IL-8 entre os pacientes cianóticos e não-cianóticos, determinando possíveis diferenças entre eles e a associação dos mesmos com variáveis hemodinâmicas, lactato plasmático e desfecho clínico.



#### IV - Referências Bibliográficas

1. Castaneda AR, Mayer JE, Jonas RA, et al. The neonatal with critical congenital heart disease: repair – a surgical challenge. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989;98:869-75.
2. Hoffman JI, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(12):1890-900.
3. Chang AC, Hanley FL, Wernovsky G, Wessel DL. *Pediatric Cardiac Intensive Care*. Williams & Wilkins 1998, pg 151-162.
4. Rabinovitch M, Herrera-Deleon V, Castaneda AR, et al. Growth and development of the pulmonary vascular bed in patients with tetralogy of Fallot, with or without pulmonary atresia. *Circulation* 1981;64:1234-49.
5. Kirklin JW, Donald DE, Harshbarger HG, et al. Studies in extracorporeal circulation. I. Applicability of Gibbon-type pump-oxygenator to human intracardiac surgery: 40 cases. *Ann Surg* 1956;144:2-8.
6. Wan S, Le Clerc JL, Vincent JL. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass: mechanisms involved and possible therapeutic strategies. *Chest* 1997; 112:676-92.
7. Royston D. Systemic inflammatory responses to surgery with cardiopulmonary bypass: pathophysiological, therapeutic, and pharmacological considerations. *Anesth Analg* 1997;85:766-82.
8. Mojcik CF, Levy JH. Aprotinin and the systemic inflammatory response after cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2001;71:745-54.

9. Hall RI, Smith MS, Rucker G. The systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass: pathophysiological, therapeutic, and pharmacological considerations. *Anesth Analg* 1997;85:766-82
10. Lotan D, Zilberman D, Dagan O, et al. Beta-chemokine secretion patterns in relation to clinical course and outcome in children after cardiopulmonary bypass: continuing the search to abrogate systemic inflammatory response. *Ann Thorac Surg* 2001;71:233-7.
11. Grünenfelder J, Zünd G, Schoeberlein A, et al. Expression of adhesion molecules and cytokines after coronary artery bypass grafting during normothermic and hypothermic cardiac arrest. *Eur J Cardio-thorac Surg* 2000;17:723-28.
12. Downing SW, Edmunds LH. Release of vasoactive substances during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1992;54:1236-43.
13. Kongsgaard UE, Smith-Erichsen N, Geiran O, Amundsen E, Mollnes TE, Garred P. Different activation patterns in the plasma-kallikrein-kinin and complement systems during coronary bypass surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 1989;33:343-7.
14. Elliot MJ, Finn AHR. Interaction between neutrophils and endothelium. *Ann Thorac Surg* 1993;56:1503-8.
15. Seghaye MC, Duchateau J, Grabitz RG, et al. Complement activation during cardiopulmonary bypass in infants and children. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;106:6: 978-87.
16. Jagers JJ, Neal MC, Smith PK, et al. Infant cardiopulmonary bypass: a procoagulant state. *Ann Thorac Surg* 1999;68:513-20.
17. Johnson D, Thomson D, Hurst T, et al. Neutrophil – mediated acute lung injury after extracorporeal perfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;107:5:1193-1202.

18. Hashimoto K, Miyamoto H, Suzuki K, et al. Evidence of organ damage after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;104:666-73.
19. Misawa Y, Kawahito K, Konishi H, Fuse K. Cytokine mediated endothelial activations during and after normothermic cardiopulmonary bypass: heparin-bonded versus non-heparin bonded circuits. *ASAIO Journal* 2000;46:740-43.
20. Levy JH, Kelly AB. Inflammation and cardiopulmonary bypass. *Can J Anaesth* 1993;40:11:1009-15.
21. Butler J, Chong GL, Baigrie RJ et al. Cytokine responses to cardiopulmonary bypass with membrane and bubble oxygenation . *Ann Thorac Surg* 1992;53:833-8.
22. Hayashi Y, Sawa Y, Nishimura M, et al. P-selectin participates in cardiopulmonary bypass – induced inflammatory response in association with nitric oxide and peroxynitrite production. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;120:558-65.
23. Morris K, Beghetti M, Petros A, Adatia I, Bohn D. Comparison of hyperventilation and inhaled nitric oxide for pulmonary hypertension after repair of congenital heart disease. *Crit Care Med* 2000;28:2974-78.
24. Adamik B, Kielb JB, Golebiowska B, et al. Effect of sepsis and cardiac surgery with cardiopulmonary bypass on plasma level of nitric oxide metabolites, neopterin, and procalcitonin: correlation with mortality and postoperative complications. *Intensive Care Med* 2000;26:1259-67.
25. Batlouni M. Endotelinas e outros fatores vasoconstritores derivados do endotélio. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo* 1996;6(2):138-45.
26. Komai H, Adatia IT, Elliot MJ, et al. Increased plasma levels of endothelin-1 after cardiopulmonary bypass in patients with pulmonary hypertension and congenital heart disease. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;106:473-8.

27. Adatia I, Haworth SG. Circulating endothelin in children with congenital heart disease. *Br Heart J* 1993;69:233-36.
28. Carreaux JP, Roux S, Siaghy M, et al. Acute pulmonary hypertension after cardiopulmonary bypass in pig: the role of endogenous endothelin. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999;15:346-52.
29. Fortenberry JD, Huber AR, Owens ML. Inotropes inhibit endothelial cell surface adhesion molecules induced by interleukin-1b. *Crit Care Med* 1997;25:303-8.
30. van Deuren M, van der Meer JWM. Hemofiltration in septic patients is not able to alter the plasma concentration of cytokines therapeutically. *Intensive Care Med* 2000;26:1176-78.
31. Speziale G, Ferroni P, Ruvolo G, et al. Effect of normothermic versus hypothermic cardiopulmonary bypass on cytokine production and platelet function. *J Cardiovasc Surg* 2000;41:819-27.
32. Wan S, Yim APC. Cytokines in myocardial injury: impact on cardiac surgical approach. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999;16(suppl 1):S107-111.
33. Yamada H, Kudoh I, Toyoshima M, et al. Heparin-coated circuits reduce the formation of TNF during cardiopulmonary bypass. *Acta Anaesthesiol Scand* 1996;40:311-17.
34. Ozawa T, Yoshihara K, Koyama N, et al. Clinical efficacy of heparin-bonded bypass circuits related to cytokine responses in children. *Ann Thorac Surg* 2000;69:584-90.
35. Frerking B, Philip I, Dehoux M, et al. Circulating cytokines in patients undergoing normothermic cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;108:4:636-41.

36. Duval ELIM, Kavelaars A, Veenhuizen L, et al. Pro- and anti-inflammatory cytokine patterns during and after cardiac surgery in young children. *Eur J Pediatr* 1999;158:387-93.
37. Habbal MHE, Carter H, Smith LJ, Elliot MJ, Strobel S. Neutrophil activation in paediatric extracorporeal circuits: effect of circulation and temperature variation. *Cardiovasc Res* 1995;29(1):102-7.
38. Cremer J, Martin M, Redl H, et al. Systemic inflammatory response syndrome after cardiac operations. *Ann Thorac Surg* 1996;61:1714-20.
39. Chew MS, Brandslund I, Brix-Christensen V, et al. Tissue injury and the inflammatory response to pediatric cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology* 2001;94:745-53.
40. Wang MJ, Chiu IS, Hsu CH, et al. Efficacy of ultrafiltration in removing inflammatory mediators during pediatric cardiac operations. *Ann Thorac Surg* 1996;61:651-6.
41. Kotani N, Hashimoto H, Sessler DI, et al. Cardiopulmonary bypass produces greater pulmonary than systemic proinflammatory cytokines. *Anest Analg* 2000;90:1039-45.
42. Bronicki RA, Backer CL, Baden HP, et al. Dexamethasone reduces the inflammatory response to cardiopulmonary bypass in children. *Ann Thorac Surg* 2000;69:1490-5.
43. Massoudy P, Zahler S, Tassani P, et al. Reduction of pro-inflammatory cytokine levels and cellular adhesion in CABG procedures with separated pulmonary and systemic extracorporeal circulation without na oxygenator. *Eur J Cardiothorac Surg* 2000;17:729-36.

44. Massoudy P, Zahler S, Becker BF, et al. Evidence for inflammatory responses of the lungs during coronary artery bypass grafting with cardiopulmonary bypass. *Chest* 2001;119:31-6.
45. Defraigne JO, Pincemail J, Larbuisson R, et al. Cytokine release and neutrophil activation are not prevented by heparin-coated circuits and aprotinin administration. *Ann Thorac Surg* 2000;69:1084-91.
46. Casey WF, Hauser GJ, Hannallah RS, et al. Circulating endotoxin and tumor necrosis factor during pediatric cardiac surgery. *Crit Care Med* 1992;20(8):1090-95.
47. Wan S, DeSmet JM, Barvais L, et al. Myocardium is a major source of proinflammatory cytokines in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;112:806-11.
48. Kawamura T, Wakusana R, Inada K. Interleukin – 10 and Interleukin – 1 receptor antagonists increase during cardiac surgery. *Can J Anaesth* 1997;44(1):38-42
49. Tárnok A, Hambsch J, Schneider P. Cardiopulmonary bypass-induced increase of serum interleukin-10 levels in children. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998;115:2:475-77.
50. Wan S, LeClerc JL, Vincent JL. Cytokine responses to cardiopulmonary bypass: lessons learned from cardiac transplantation. *Ann Thorac Surg* 1997; 63:269-76.
51. Seghaye MC, Duchateau J, Grabitz RG, et al. Influence of low-dose aprotinin on the inflammatory reaction due to cardiopulmonary bypass in children. *Ann Thorac Surg* 1996;61:1205-11.

52. Tárnok A, Hamsch J, Emmrich F, et al. Complement activation, cytokines, and adhesion molecules in children undergoing cardiac surgery with or without cardiopulmonary bypass. *Pediatr Cardiol* 1999;20:113-25.
53. Dreyer WJ, Phillips SC, Lindsey ML, et al. Interleukin 6 induction in the canine myocardium after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;120:256-63.
54. Corbi P, Rahmati M, Delwail A, et al. Circulating soluble gp130, soluble IL-6R, and IL-6 in patients undergoing cardiac surgery, with or without extracorporeal circulation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2000;18:98-103.
55. Hauser GJ, Ari JB, Colvin MP, et al. Interleukin-6 levels in serum and lung lavage fluid of children undergoing open heart surgery correlate with postoperative morbidity. *Intensive Care Med* 1998;24:481-86.
56. Ashraf S, Bhattacharya K, Tian Y, et al. Cytokine and S100B levels in paediatric patients undergoing corrective cardiac surgery with or without total circulatory arrest. *Eur J Cardio-thorac Surg* 1999;16:32-37.
57. Millar AB, Armstrong L, Linden J, et al. Cytokine production and hemofiltration in children undergoing cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993;56:1499-502.
58. 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;40:11;1016-21.
59. Ashraf SS, Tian Y, Zacharrias S, et al. Effects of cardiopulmonary bypass on neonatal and paediatric inflammatory profiles. *Eur J Cardiothorac Surg* 1997;12:862-8.

60. Borowiec JW, Hagman L, Totterman TH, et al. Circulating cytokines and granulocyte-derived enzymes during complex heart surgery. *Scand J Thor Cardiovasc Surg* 1995;29:167-74.
61. Hennein HA, Ebba H, Rodriguez JL, et al. Relationship of proinflammatory cytokines to myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 108:626-35.
62. Finkel MS, Hoffman RA, Shen L, et al. Interleukin-6 (IL-6) as a mediator of stunned myocardium. *Am J Cardiol* 1993;71:1231-2.
63. Kawamura T, Inada K, Okada H, et al. Methylprednisolone inhibits increase of interleukin 8 and 6 during open heart surgery. *Can J Anaesth* 1995;45:5:399-403.
64. Inaba H, Kochi A, Yorozu S. Suppression by methylprednisolone of augmented plasma endotoxin-like activity and interleukin-6 during cardiopulmonary bypass. *Br J Anaesth* 72;348-50.
65. Teoh KHT, Bradley CA, Gauldie J, Burrows H. Steroid inhibition of cytokine-mediated vasodilation after warm heart surgery. *Circulation* 1995;92[suppl II]:II-347-53.
66. Engelman RM, Rousou JA, Flack III JE, et al. Influence of steroids on complement and cytokine generation after cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1995;60:801-4.
67. Finn A, Naik S, Klein N, et al. Interleukin-8 release and neutrophil degranulation after pediatric cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;105:2:234-41.
68. Kalfin RE, Engelman RM, Rousou JA, et al. Induction of interleukin-8 expression during cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1993;88(5):II-401- II-406.



69. Jorens PG, Jongh RD, Backer WD, et al. Interleukin-8 production in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:890-5.
70. Marty C, Misset B, Tamion F, et al. Circulating interleukin-8 concentrations in patients with multiple organ failure of septic and nonseptic origin. *Crit Care Med* 1994;22:673-79.
71. Burns SA, Newburger JW, Xiao M, et al. Induction of interleukin-8 messenger RNA in heart and skeletal muscle during pediatric cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1995;92[suppl II]:II-315-21.
72. Grossi EA, Kallembach K, Chan S, et al. Impact of heparin bonding on Pediatric Cardiopulmonary bypass: a prospective randomized study. *Ann Thorac Surg* 2000;70:191-6.
73. Marie C, Muret J, Fitting C, et al. Reduced ex vivo interleukin – 8 production by neutrophils in septic and nonseptic systemic inflammatory response syndrome. *Blood* 1998;91(9):3439-46.
74. Gilliland HE, Armstrong MA, McMurray TJ. The inflammatory response to pediatric cardiac surgery: correlation of granulocyte adhesion molecule expression with postoperative oxygenation. *Anesth Analg* 1999;89:1188-91.
75. Gormley SMC, McBride WT, Armstrong MA, et al. Plasma and urinary cytokine homeostasis and renal dysfunction during cardiac surgery. *Anesthesiology* 2000;93:1210-6.
76. Töns M, Mihaljevic T, von Segesser LK, et al. Acute lung injury during cardiopulmonary bypass: are the neutrophils responsible? *Chest* 1995;108:1551-6.

## **V - ARTIGO EM PORTUGUÊS**

## **Perfil dos níveis plasmáticos de IL-6 e IL-8 no pós-operatório de lactentes submetidos à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea**

Aline Medeiros Botta, Lisiane Dalle Mulle, Cláudia Ricachinevsky, Jarbas Oliveira, Aldemir Nogueira, Nilton Della Torre, Silvana Molossi Lawrence

Unidade de Terapia Intensiva Cardíaca Pediátrica, Serviço de Cardiologia Pediátrica e Cirurgia Cardíaca Pediátrica (AB, LDM, CR, NA, NDT, SML) do Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, RS, Brasil; e Pós-graduação em Cardiologia (AB, LDM, SML) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

Endereço para correspondência: Aline Medeiros Botta, Serviço de Cardiologia pediátrica do Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Rua Prof. Annes Dias, 285, Porto Alegre, RS, CEP 90020-09, Brasil. E-mail: [abotta@terra.com.br](mailto:abotta@terra.com.br)

Recurso financeiro parcial fornecido pela FAPERGS (Fundação de Amparo à pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul).

Keywords: interleukins, cardiopulmonary bypass, cardiac surgery, pediatric critical care, inflammatory mediators, congenital heart disease

**Resumo**

*Objetivo:* O uso de circulação extracorpórea (CEC) para correção de defeitos cardíacos congênitos é capaz de desencadear uma resposta inflamatória sistêmica, levando à disfunção multi-orgânica em lactentes submetidos à este procedimento. Ocorre liberação de diversos mediadores inflamatórios, incluindo as interleucinas (IL) 6 e 8. O objetivo deste estudo foi determinar os níveis de IL-6 e IL-8 em lactentes submetidos à cirurgia cardíaca e sua associação com evolução (alta ou óbito), incluindo pacientes cianóticos e acianóticos.

*Método:* Estudo observacional de casos, prospectivo. Foram estudados 25 lactentes (1 mês e < 1 ano de vida) admitidos na UTI cardíaca pediátrica após cirurgia cardíaca com CEC entre junho de 1998 e abril de 1999. Foram coletadas amostras de sangue arterial de cada paciente em 3 momentos diferentes: 1 – na indução anestésica, 2 – 6 horas após a chegada na UTIP, 3 – 24 horas após a cirurgia. Cada amostra de sangue foi centrifugada e o plasma coletado e congelado para posterior análise, realizada através do método de ELISA quantitativo. Para análise estatística foram utilizados testes t de Student, Mann Whitney, qui quadrado, Fisher, análise de Friedman para amostras pareadas e coeficientes de correlação de Pearson e Spearman, considerando um alfa de 0,05.

*Resultados:* Os níveis plasmáticos de IL-6 e IL-8 encontraram-se elevados em todos os pacientes no momento basal e aumentaram após a CEC, sendo o pico nas 6 horas após a chegada na UTIP ( $p=0,003$  e  $p=0,019$ , respectivamente). Nas 24 horas de pós-operatório os níveis de IL-6 e IL-8 ainda permaneciam elevados, acima dos níveis basais. Não foi possível estabelecer correlação estatisticamente significativa entre níveis elevados de IL-6 e IL-8 e evolução para alta ou óbito. A análise das variáveis hemodinâmicas (PAM, PVC, PAE, PAP, Sat O<sub>2</sub>, FC) e os níveis plasmáticos de IL-6 e IL-8 também não foi significativa do ponto de vista estatístico. O tempo de CEC e a IL-6 no momento 2 apresentaram

correlação positiva ( $r=0,44$ ;  $p=0,028$ ), assim como os níveis elevados de lactato no 2º momento e IL-6 neste mesmo momento ( $r=0,40$ ;  $p=0,047$ ). Os pacientes que obitaram apresentavam menor peso ( $< 5$  Kg.) ( $p=0,011$ ) e menor idade ( $< 5$  months) ( $p=0,019$ ) do que os pacientes que tiveram alta. Comparando-se níveis de IL-6 e IL-8 entre pacientes cianóticos e acianóticos, não houve diferença significativa entre eles, nem correlação com evolução clínica.

*Conclusão:* O presente estudo mostra que os níveis de IL-6 e IL-8 estão aumentados em lactentes com defeito cardíaco congênito, existindo um aumento significativo destes níveis após a CEC. Não foi possível estabelecer uma correlação entre estes níveis elevados e evolução clínica. Pacientes com baixo peso e menor idade, e com níveis séricos de lactato mais elevados foram os que apresentaram pior evolução clínica, independente dos níveis plasmáticos das interleucinas.

**Abstract:**

*Objective:* The use of CPB to correct cardiac defects elicits a systemic inflammatory cascade, causing multiorgan dysfunction in infants submitted to this procedure. There is release of many inflammatory mediators, including IL-6 and 8. The objective of this study was to determine the levels of IL-6 and IL-8 in children submitted to cardiac surgery and their association with outcome (discharge or death), including cyanotic and acyanotic patients.

*Methods:* Case study, observational, prospective. Twenty five children were enrolled (>1month and < 1 year) admitted to the PICU after cardiac surgery with CPB between June 1998 and April 1999. Arterial blood samples were collected from each patient at three different time-points: 1 – during induction of anesthesia (baseline), 2 – 6 hours after arriving in the PICU, 3 – 24 hours after surgery. Each blood sample was centrifuged and the plasma collected and frozen until further analysis, using the ELISA quantitative method. For statistical analysis, the Student's *t* test, Mann Whitney, chi square, Fisher, Friedman analysis for paired samples, Pearson and Spearman's *r* correlation were used, considering an alpha value of 0.05.

*Results:* The plasmatic values of IL-6 and IL-8 were elevated in all patients during induction of anesthesia (time-point 1) and increased after CPB, being the highest value at 6 hours after arriving in the PICU (time-point 2) ( $p=0.003$  and  $p=0.019$ , respectively). The values decreased subsequently, although remaining elevated up to 24 hours after surgery above baseline values. It was not possible to establish a statistical significant correlation between elevated values of IL-6 and IL-8 and outcome. The analysis of hemodynamic variables (MAP, CVP, LAP, PAP, HR and O<sub>2</sub> Sat) and IL-6 and IL-8 values was also not

statistically significant. The CPB time and IL-6 levels at time-point 2 had a positive correlation ( $r=0.44$ ;  $p=0.028$ ), as well as elevated values of serum lactate at time-point 2 and IL-6 levels at the same time-point ( $r=0.40$ ;  $p=0.047$ ). The patients who died had lower weight ( $< 5$  Kg) ( $p=0.011$ ) and younger age ( $< 5$  months) ( $p=0.019$ ) compared to the patients discharged. Analyzing the IL values between cyanotic and acyanotic patients, there were no statistically significant differences between both groups, neither different outcomes.

*Conclusion:* This study demonstrates that IL-6 and IL-8 levels are elevated in children with congenital heart defects, and these increase after CPB. It was not possible to establish a correlation between elevated IL values and outcome. Patients with lower weight and younger age, as well as increased lactate values, had poorer outcome, independently of IL levels.

## **Introdução**

Atualmente, com os recentes avanços nas áreas cirúrgica, anestésica e na tecnologia para realização de circulação extracorpórea em pacientes de baixo peso, as cirurgias para correção definitiva das cardiopatias congênitas tornaram-se o procedimento de escolha na maioria das instituições. Estima-se que para cada mil nascidos vivos, 8 a 9 apresentarão cardiopatia congênita, sendo que um número considerável destes necessitarão de tratamento cirúrgico no primeiro ano de vida (1,2). Sabe-se que a correção definitiva das cardiopatias congênitas tem impacto significativo na redução da morbidade e mortalidade causadas pelo defeito, sendo capaz de reverter ou impedir as suas conseqüências deletérias impostas ao desenvolvimento de outros órgãos e sistemas nestas crianças (1,3,4).

Durante a CEC, os pacientes são submetidos a variações importantes, tais como: fluxo sanguíneo não pulsátil, hemodiluição, baixa pressão de perfusão e hipotermia (15° a 32°C), sendo estas muitas vezes responsáveis pelas complicações clínicas no PO de cirurgias cardíacas (5,6). A cirurgia cardíaca com CEC tem-se mostrado capaz de induzir uma cascata inflamatória sistêmica, clinicamente caracterizada por hipotensão patológica, febre de origem não infecciosa, coagulação intra-vascular disseminada, edema tecidual difuso, e em casos extremos, falência de múltiplos órgãos (7,8).

A resposta inflamatória sistêmica pode ser iniciada durante a cirurgia cardíaca por inúmeros processos, dentre eles, o contato do sangue com a superfície estranha do circuito da CEC, o desenvolvimento de injúria de isquemia e reperfusão e a presença de endotoxinas (9). A ativação da resposta inflamatória dá-se através da ativação de circuitos humorais e celulares (8,10). As citocinas são proteínas que agem localmente em células alvo, induzindo crescimento, diferenciação, quimiotaxia e/ou apoptose. Interações sinérgicas entre as citocinas e suas células alvo amplificam a resposta inflamatória,



através da atração de leucócitos ao sítio de injúria e estimulação de liberação adicional de citocinas. São produzidas por monócitos, macrófagos ativados, células endoteliais, entre outras células (20).

A IL-6, produzida por células T, células endoteliais e monócitos, é uma mediadora da resposta de fase aguda à injúria (29). A CEC tem sido constantemente associada a aumento da IL-6, porém esta pode ocorrer também após outras grandes cirurgias (8,32,33,36,38,45,50-58). O miocárdio, após sofrer isquemia e reperfusão, tem sido implicado como a maior fonte de IL-6 seguindo o término da CEC (45). O seu aumento após a CEC tende a ocorrer entre 1 e 6 horas após a cirurgia, tanto em adultos como em crianças. (53) Tem sido demonstrado que os níveis plasmáticos de IL-6 podem diminuir com o uso de corticosteróide durante a CEC (40, 61-64).

A IL-8 atua como um potente quimiotático para neutrófilos. Outras propriedades atribuídas a IL-8 incluem: regulação da migração transendotelial de neutrófilos, liberação de histamina, injúria pulmonar associada ao seqüestro pulmonar de neutrófilos pós-CEC. (9,30). Estas propriedades sugerem que a IL-8 tenha um importante papel no direcionamento das células polimorfonucleares no desenvolvimento da SIRS após CEC. (65) Aumentos nas concentrações plasmáticas de IL-8 tem sido descritos durante cirurgia cardíaca em adultos e crianças.(35, 41, 54, 56, 65-73). Os picos de IL-8 circulantes parecem preceder ou ser coincidentes com os picos de IL-6, sendo suas liberações induzidas por TNF (65).

Atualmente existem evidências suficientes para associar a CEC com a SIRS observada no PO, a qual é iniciada pela síntese de várias citocinas, incluindo IL-6 e IL-8. Existem divergências na literatura no que se refere ao momento de maior elevação destas citocinas no PO, assim como da existência de correlação destas substâncias com variáveis

hemodinâmicas ou clínicas. Nosso objetivo primário foi determinar o perfil dos níveis plasmáticos de IL-6 e IL-8 no PO de lactentes submetidos à cirurgia cardíaca com CEC e, secundariamente, determinar se existe associação entre estes níveis e o desfecho clínico destes pacientes.

### **Casuística e Métodos**

#### *Delineamento:*

Foi realizado um estudo de casos com eixo temporal e de caráter observacional, prospectivo.

#### *População em Estudo*

Num total de 90 pacientes maiores de 1 mês e menores de 1 ano submetidos à cirurgia cardíaca com CEC no Serviço de Cardiologia Pediátrica do Hospital São Francisco (Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre), 25 foram selecionados para completar o estudo. Este número de pacientes selecionados deveu-se à disponibilidade de completar a coleta de material em todos os momentos e às restrições econômicas encontradas para a medida dos mediadores inflamatórios. Estes 25 pacientes foram submetidos à cirurgia cardíaca com CEC entre junho de 1998 e abril de 1999. Os critérios de exclusão foram: pacientes nos quais a cirurgia proposta inicialmente não pode ser realizada, os que obitaram no trans-operatório e aqueles para os quais o consentimento informado não foi obtido junto aos responsáveis. O protocolo do estudo foi previamente aprovado pelos comitês de Ética e Pesquisa do Complexo Hospitalar Santa Casa e do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

### *Manejo Cirúrgico*

A anestesia foi induzida com Fentanyl (10 µg/Kg), Midazolan (100-200 µg/Kg) e Pancurônio (0.08 mg/Kg). A manutenção foi realizada com as mesmas drogas, usando Fentanyl e Midazolan em infusão contínua. Hidrocortisona (10 mg/Kg) foi administrada na indução da anestesia e no começo da CEC. A CEC foi realizada do modo convencional, com um episódio de clampeamento de aorta e uma dose única de cardioplegia. Após administração de heparina (5 mg/Kg), a CEC foi instituída com um fluxo de perfusão de 2.4 L/m<sup>2</sup>/minuto com hipotermia moderada a profunda (28°C e 18°C, respectivamente). O equipamento da CEC é constituído de uma bomba de perfusão não-pulsátil, oxigenador de membrana 0.25 ou 0.5 da marca Lucchese® (Braile Biomédica, São Paulo, SP, Brasil) e um reservatório venoso de cardiotomia Braile® (Braile Biomédica, São Paulo, SP, Brasil). Durante a CEC, o hematócrito do paciente foi mantido entre 19% e 26%. Nitroprussiato de sódio foi administrado durante o período de resfriamento e suspenso no período de reaquecimento, quando a temperatura corporal do paciente atingia 36°C. Todos os pacientes receberam, durante e após a cirurgia, transfusão de hemoderivados (concentrado de hemácias) e soluções colóides ou cristalóides para suplementar o volume de sangue circulante. A CEC era descontinuada e uma infusão contínua de dopamina na dose de 5 µg/Kg/min iniciada. Cefazolina (40 mg/Kg/dose) foi usado como profilaxia antibiótica, a menos que o paciente estivesse em uso de antibioticoterapia terapêutica previamente. A equipe de anestesia foi mantida constante em todos os pacientes, assim como a equipe cirúrgica.

### *Amostras de Sangue*

As amostras de sangue foram coletadas da linha arterial em 3 diferentes momentos: 1) na indução anestésica; 2) 6 horas após a chegada na unidade de terapia intensiva pediátrica (UTIP); 3) 24 horas após a cirurgia. No total foram coletados 2 ml de sangue em cada um dos momentos, em frascos contendo anticoagulante ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA). As amostras foram imediatamente centrifugadas, o plasma separado e armazenado a -20°C para posterior dosagem das interleucinas.

As dosagens de IL-6 e IL-8 foram realizadas através da técnica de ELISA, simultaneamente e em duplicata para minimizar a variabilidade entre os testes. Foram utilizados *kits* comercialmente disponíveis (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) com limites mínimos de detecção de IL-6 de 3.13 pg/mL e de IL-8 de 31.2 pg/mL.

### *Variáveis Analisadas*

As variáveis analisadas em todos os pacientes foram: idade, peso, tipo de defeito cardíaco congênito, tempo de CEC e clampeamento aórtico, temperatura de resfriamento, uso de drogas vasoativas (inotrópicos e vasodilatadores), níveis de lactato sérico, desenvolvimento de DMOS, dados hemodinâmicos (pressão arterial média - PAM, pressão venosa central - PVC, pressão de átrio esquerdo - PAE, pressão média da artéria pulmonar - PAP, frequência cardíaca - FC, saturação percutânea de oxigênio - Sat O<sub>2</sub>), níveis de IL-6 e IL-8 e evolução (alta ou óbito). Disfunção de múltiplos órgãos foi definida como falência de 2 ou mais órgãos ou sistemas, tais como cardíaco, respiratório, renal, hepático, neurológico, como já descrito previamente (15).

### *Análise Estatística*

Os resultados são apresentados sob forma de proporções para as variáveis categóricas, como média  $\pm$  desvio padrão para variáveis de distribuição normal ou mediana e intervalo inter-quartil para variáveis de distribuição assimétrica. Os testes t de Student e Mann Whitney foram usados para comparar variáveis quantitativas entre dois grupos, e os testes de qui quadrado e Fischer para comparar variáveis categóricas. Foi empregada função logarítmica para correção da assimetria das variáveis interleucinas 6, 8 e lactato, possibilitando assim, a utilização de testes paramétricos. Para análise dos níveis de IL-6 e IL-8 nos diferentes momentos, foi utilizada a análise de Friedman para amostras pareadas. Os coeficientes de correlação de Pearson e Spearman foram aplicados no estudo das associações entre as interleucinas e demais variáveis. Um alfa de 0.05 foi considerado significativo para todas as variáveis analisadas. Os dados foram processados usando o programa Statistics Package for Social Science (SPSS) 8.0.

## **Resultados**

### *Características Demográficas e Clínicas*

No período entre junho de 1998 e abril de 1999, 25 lactentes submetidos a cirurgia cardíaca com CEC para correção de defeitos congênitos foram estudados. Quinze (60%) pacientes eram do sexo masculino. A média de idade foi de  $6 \pm 2,65$  meses e o peso médio foi de  $5,36 \pm 1,86$  Kg. Dezoito (72%) eram não cianóticos e 7 (28%) cianóticos. Onze (44%) pacientes apresentaram diagnóstico de defeito do septo atrioventricular (DSAV) e 6 (24%) de tetralogia de Fallot. Cinco (20%) pacientes eram portadores da síndrome de Down. Os diferentes diagnósticos de todos pacientes estudados estão listados na tabela 1. A

tabela 2 contém características demográficas, tipo de cirurgia, desfecho e nível de lactato de cada paciente.

O tempo médio de CEC foi de  $89,3 \pm 34,6$  minutos, o tempo médio de clampeamento aórtico foi de  $52,2 \pm 21,6$  minutos e a temperatura média de resfriamento foi de  $27^{\circ}\text{C} \pm 3,4^{\circ}\text{C}$ . Todos os pacientes receberam dopamina e em 9 (36%) pacientes foi necessário o acréscimo de milrinone. Em 11 (44%) pacientes, uma terceira droga vasoativa (inotrópicos como adrenalina ou isoprenalina ou vasodilatadores como nitroprussiato de sódio ou nitroglicerina) necessitou ser adicionada à dopamina e milrinone. As variáveis hemodinâmicas de todos os pacientes estão representadas na tabela 3.

Sete (28%) pacientes desenvolveram DMOS. Dos 25 pacientes, 21 (84%) receberam alta para casa e 4 (16%) morreram durante a internação na UTIP. Três pacientes morreram por terem desenvolvido hipertensão pulmonar, levando a baixo débito cardíaco, e um paciente necessitou re-intervenção cirúrgica após 2 semanas de PO, obitando posteriormente por baixo débito cardíaco persistente levando à DMOS. Todos pacientes que obitaram eram portadores de DSAV, sendo que dois deles também possuíam síndrome de Down.

#### *Níveis Plasmáticos de IL-6 e IL-8*

Os valores plasmáticos de IL-6 e IL-8, expressos em mediana e intervalo inter-quartil, nos diferentes tempos de coleta estão listados nas tabelas 4 e 5, respectivamente. Os valores encontrados para ambas interleucinas foram elevados em todos os pacientes no momento inicial (indução anestésica) e sofreram posterior aumento após a CEC, com um pico nas 6 horas após a chegada na UTIP, diminuindo posteriormente, embora ainda mantendo níveis elevados 24 horas após a cirurgia comparativamente aos níveis basais.

Existe uma diferença estatisticamente significativa para a IL-6 entre níveis basais (momento 1) e 6 horas após a chegada na UTIP (momento 2), onde valores mais elevados são apreciados ( $p=0,003$ ). Entre o momento 2 e o momento 3 (24 horas após), os níveis declinam significativamente ( $p=0,023$ ), embora mantendo-se acima dos valores basais ( $p=0,026$ ) (Fig 1). Comportamento similar foi observado com a IL-8, onde um aumento estatisticamente significativo pode ser visto entre o momento 1 e o momento 2 ( $p=0,019$ ), valores estes que declinaram nas 24 horas pós-cirurgia (momento 3), embora não significativo estatisticamente ( $p=0,420$ ). Da mesma forma, os níveis no momento 3 não são significativamente diferentes daqueles encontrados durante a indução anestésica (basal) ( $p=0,476$ ) (Fig 2).

Analisando as concentrações plasmáticas da IL-6 e IL-8 nos diferentes tempos de coleta e tempo de clampeamento, tempo de CEC e temperatura de resfriamento, observou-se uma correlação positiva entre IL-6 (logarítmo) no momento 2 (6 horas após a chegada na UTIP) e tempo de CEC ( $r=0,44$ ;  $p=0,028$ ) (Fig 3). Todas as demais correlações não demonstraram significância estatística. Considerando os níveis plasmáticos de lactato, observou-se uma correlação positiva entre IL-6 (logarítmo) no momento 2 e o lactato sérico no mesmo momento ( $r=0,40$ ;  $p=0,047$ ) (Fig 4).

Considerando-se as diferentes variáveis hemodinâmicas (PAM, PVC, PAP, PAE, FC, Sat O<sub>2</sub>) e os níveis de IL-6 e IL-8, não houve correlação estatisticamente significativa, exceto negativa com PAP e IL-6 (logarítmo) no momento 2 (6 horas após a chegada na UTIP) ( $r=-0,85$ ;  $p=0,007$ ).

Níveis elevados de IL-6 e IL-8 não apresentaram correlação positiva com a presença de DMOS ou evolução para alta ou óbito. Entretanto, pacientes que evoluíram para óbito apresentavam peso menor que 5 Kg ( $p= 0.011$ ) e idade média menor que 5 meses ( $p=$

0.019) (Fig 5 e Fig 6, respectivamente). Da mesma forma, os pacientes com níveis elevados de lactato nas 6 horas após a chegada na UTIP foram os que tiveram pior evolução (óbito) ( $r=0,47$ ;  $p=0,022$ ).

#### *Análise Específica em Pacientes Cianóticos e Não Cianóticos*

Analisando os dados comparativamente entre pacientes cianóticos ( $n=7$ ) e não cianóticos ( $n=18$ ), observou-se que em pacientes não cianóticos os níveis basais de IL-6 estão mais elevados que nos cianóticos ( $p=0,016$ ). Entretanto, analisando os níveis de IL-8, observa-se que os pacientes cianóticos possuem níveis basais mais elevados comparativamente aos pacientes não cianóticos ( $p=0,044$ ).

As demais associações não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos e as variáveis estudadas.

#### **Discussão**

Embora a cirurgia cardíaca com CEC rotineiramente curse sem seqüelas clínicas significantes, um pequeno número de pacientes desenvolve uma resposta inflamatória generalizada com repercussão clínica similar à síndrome vista em pacientes pós-trauma ou sépticos. Esta resposta inflamatória, na maioria dos pacientes, é auto-limitada, representando um evento temporário de reação inflamatória à injúria tecidual (39, 72).

A patogênese deste processo é multifatorial e envolve a ativação das cascatas de coagulação, fibrinolítica e do complemento. Esta ativação resulta em liberação de citocinas, quimiotaxia de neutrófilos e expressão de moléculas de adesão vascular. Posteriormente, leucócitos e plaquetas são ativados e recrutados aos locais de lesão, aderindo ao endotélio



da microvasculatura com resultante migração transendotelial. Uma vez localizados nos tecidos, reações oxidativas levam à geração de radicais livres de oxigênio, com subsequente manutenção da injúria endotelial (77).

Os pacientes pediátricos são particularmente susceptíveis a estes efeitos deletérios da CEC. O volume sanguíneo circulante menor neste grupo de pacientes determina uma porcentagem relativa maior de contato entre o sangue e a superfície do circuito da CEC comparativamente com o que ocorre nos adultos. Esta maior exposição causa uma maior ativação das cascatas inflamatórias. A imaturidade dos órgãos e sistemas da criança também pode exercer um papel neste contexto, aumentando a sua vulnerabilidade a estes insultos.

As crianças, em particular nos primeiros meses de vida, possuem uma maior propensão de desenvolver perdas capilares e edema PO, especialmente aqueles com tempo de CEC mais prolongado (59, 77, 78). Os neonatos e lactentes pequenos apresentam também atividade anormal ou incompleta do sistema complemento, além de um sistema imunológico imaturo, fatores estes contribuindo para o risco de injúria celular associada à CEC. Estes sistemas imaturos de resposta sofrem diferenciação e alcançam maturidade no decorrer do primeiro ano de vida.

As citocinas são importantes mediadores da resposta sistêmica à CEC e cirurgia cardíaca. Dentre as mais importantes e estudadas até hoje incluem-se IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-8, as quais são detectáveis no sangue periférico no período PO imediato. A ação das citocinas pró-inflamatórias citadas acima é equilibrada pela liberação quase simultânea de citocinas anti-inflamatórias, tais como IL-10, receptor antagonista da IL-1 (IL-1ra) e receptores solúveis do TNF- $\alpha$  (TNFsr) (39,48,49,51). Ao contrário dos adultos, a resposta das citocinas em crianças após cirurgia cardíaca parece ser menos clara. O balanço entre a

resposta inflamatória e anti-inflamatória parece ser crítico na determinação da extensão da injúria tecidual e, por consequência, da evolução clínica.

Diversos estudos demonstraram que as citocinas conhecidas como pró-inflamatórias, IL-6 e IL-8, encontram-se elevadas após CEC, tanto em adultos como em crianças (8,31,34,35,37,38,40,43,52-60,67,68,70-75). O nosso estudo, particularmente, evidenciou níveis de IL-6 e IL-8 acima dos níveis detectados pelo *kit* em todos os pacientes, mesmo no chamado período basal (indução anestésica). De acordo com estudo desenvolvido por Corbi e colaboradores, os níveis de IL-6 em adultos normais devem ser menores que 20 pg/ml (54). Em crianças saudáveis, usualmente, não é possível detectar concentrações relevantes de citocinas como IL-6 e IL-8 (36). Entretanto, no estudo realizado por Duval e colaboradores (36), não foram detectadas elevações na IL-6 no pré-operatório de pacientes da mesma faixa etária que os pacientes incluídos no nosso estudo (lactentes) portadores de DSAV. Neste mesmo estudo, em pacientes menores de 2 meses admitidos para cirurgia cardíaca de patologias complexas, níveis elevados de IL-6 foram observados no pré-operatório. Tárnok (52) e Bronicki (42) também não evidenciaram níveis elevados de IL-6 e IL-8 no pré-operatório de cirurgia cardíaca, o que poderia ser explicado pela faixa etária mais elevada dos pacientes por eles estudados (maiores de 5 anos e 2 anos de idade, respectivamente), indicando talvez uma resposta dependente de idade e mais proeminente em crianças pequenas. A idade também influencia os níveis de citocinas, com tendência a níveis maiores em pacientes mais jovens (36,57). A sua presença em níveis elevados no período pré-operatório pode refletir a instabilidade hemodinâmica característica de defeitos não corrigidos, onde alterações de fluxo sanguíneo levam à ativação endotelial e liberação de mediadores inflamatórios.

O perfil do aumento tanto da IL-6 como da IL-8 foi semelhante ao descrito na literatura por diversos autores (8,11,19,21,31,34,35-38,40,43,45,52-60,63,67,68,71-75). Foi demonstrado um aumento significativo no nível de ambas interleucinas nas 6 horas após a CEC (quando comparado ao nível basal), com uma diminuição na medida das 24 horas, porém sem atingir os níveis observados no pré-operatório, comportamento similar aos dados descritos por inúmeros autores (34,52,55,56,57,67,71,78,79). Este rápido aumento da IL-6 e IL-8 no final da CEC confirma a visão de que o reaquecimento e o mecanismo de isquemia-reperfusão possam ser responsáveis, pelo menos em parte, pela liberação sistêmica dos mesmos (59). Em crianças, foi demonstrado que o pico dos valores de IL-8 geralmente ocorre entre 1 e 4 horas após o reaquecimento, porém valores elevados (>200 pg/ml) podem ser detectados até 6 horas após o insulto (67). O pico de aparecimento da IL-6 dá-se entre 4 a 6 horas, porém a mesma já pode ser detectada no plasma entre 30 minutos a 2 horas após estimulação (9).

Finn e colegas encontraram uma correlação positiva entre o tempo de duração da CEC e os níveis plasmáticos elevados de IL-8 (67). No nosso estudo, tal associação não foi observada. No entanto, quando analisada a correlação entre tempo de CEC e IL-6 seis horas após a CEC (momento 2), esta mostrou-se positiva, ou seja, períodos de CEC mais longos foram acompanhados de maiores aumentos nos níveis de IL-6 seis horas após o insulto inicial, momento onde ocorre o pico de liberação de mediadores inflamatórios. Em nossos estudos prévios, tal fenômeno foi observado em relação à expressão da ET-1 e das moléculas de adesão ICAM-1 e molécula de adesão celular vascular (VCAM)-1 (80,81). Dreyer e colaboradores, num estudo experimental em miocárdio canino, foi capaz de afirmar que ocorre produção de IL-6 pelos miócitos após injúria hipóxico-isquêmica, seguida de reperfusão (53). É de interesse o fato de Wan e colegas terem demonstrado, na

literatura, que aumento nos níveis de IL-6 se relacionaram com maior trauma cirúrgico, e não apenas com a utilização de CEC ou não durante a cirurgia cardíaca (32,34,82). Não podemos tecer comentários a este respeito uma vez que nosso estudo não incluiu cirurgias cardíacas sem o uso de CEC, o que claramente resulta em uma amplificadora cascata de eventos inflamatórios seguindo este insulto.

Rotineiramente, utilizamos a dosagem de lactato como um importante marcador de disfunção orgânica dos pacientes em PO imediato. Já foi demonstrado, por diversos autores, que níveis elevados de lactato estão relacionados com mau prognóstico em pacientes pediátricos no PO de cirurgia cardíaca. (83-85). No presente estudo, observou-se uma correlação positiva entre IL-6 6 horas após a chegada na UTIP e lactato elevado no mesmo período. Tais achados corroboram a impressão clínica de que quanto maior a reação inflamatória, representada por níveis elevados de IL-6 em diferentes momentos do PO cardíaco, maior é a repercussão clínica na evolução destes pacientes, representada por níveis elevados de lactato (concomitantes), um marcador reconhecido de comprometimento tecidual em PO de cirurgia cardíaca.

A análise das variáveis hemodinâmicas e sua correlação com os níveis de interleucinas não alcançou significância estatística, exceto entre PAP e IL-6 no momento 2, observação esta isenta de suporte na literatura. Frering e colaboradores, analisando as citocinas IL-6 e IL-8 em dez pacientes adultos submetidos à CEC normotérmica, também não encontrou correlação entre os níveis séricos de citocinas com PAM e RVS. O número limitado de pacientes destes estudos pode explicar a ausência de correlação estatística entre as variáveis analisadas (35).

Sete dos 25 pacientes avaliados apresentaram DMOS na sua evolução e quatro evoluíram para óbito no PO (intra-hospitalar). A nossa amostra constituiu-se de lactentes, a

maioria deles com cardiopatias severas o suficiente para necessitarem correção cirúrgica definitiva no primeiro ano de vida. Ao contrário do que era esperado, não foi possível correlacionar a presença de níveis elevados de citocinas com pior evolução, seja por DMOS ou óbito, fato este que pode dever-se ao número limitado de pacientes. Interessantemente, os 4 pacientes que evoluíram para óbito não eram os que apresentaram as concentrações mais elevadas de IL-6 ou IL-8. Outros estudos, da mesma forma, não obtiveram tal associação (52). Claramente, ao mesmo tempo que a investigação de mediadores inflamatórios no PO cardíaco oferece dados para o entendimento desta síndrome complexa que segue o uso da CEC, muitos outros fatores e variáveis contribuem para a evolução final destes pacientes.

As variáveis que se correlacionaram positivamente com evolução para óbito, foram baixo peso e menor idade. Tais achados não são surpreendentes quando se estuda fatores de risco para cirurgia cardíaca (59). Da mesma forma, níveis elevados de lactato nas 6 horas após a chegada na UTIP apresentou correlação positiva com pior prognóstico, ou seja, evolução para óbito.

Realizando-se análise dos níveis de interleucinas e todas as demais variáveis estudadas assim como desfecho, separadamente, em pacientes cianóticos e não cianóticos, não foram encontradas diferenças significativas. A literatura demonstra que algumas das substâncias liberadas após a CEC tem níveis mais elevados em pacientes não cianóticos, como é o caso da endotelina, pelo hiperfluxo pulmonar (27). No nosso estudo, foi observado níveis mais elevados de IL-8 nos pacientes cianóticos, o que pode estar relacionado à presença de níveis elevados de elastase, como foi demonstrado por Tonz e colaboradores durante cirurgia cardíaca (76). Experimentos elegantes realizados em

modelos animais associam o desenvolvimento induzido de hipertensão pulmonar levando à hipóxia com níveis elevados de elastase vascular endógena (86).

Inúmeros estudos objetivam avaliar a eficácia de medidas anti-inflamatórias, como a utilização de corticosteróides na indução anestésica, como uma forma de reduzir a resposta inflamatória sistêmica desencadeada pela CEC (9,63,65,66,87,88). Alguns autores conseguiram demonstrar, em estudos controlados, que há redução nos níveis circulantes de IL-6 e IL-8 com o uso de corticosteróides (63,65,66,87). No presente estudo, foi utilizado corticóide na indução anestésica de todos os pacientes, o que torna os resultados não influenciáveis por esta variável.

Diversas outras estratégias anti-citocinas têm sido descritas na literatura, com resultados conflitantes (29,89). Apesar das vantagens teóricas da aprotinina, um inibidor das cascatas de coagulação, a sua utilização com este objetivo não conseguiu ser demonstrada (8,51). A utilização de hemofiltração ou ultrafiltração modificada ao final da cirurgia cardíaca com CEC tem sido descrita como uma técnica eficaz de retirada de mediadores inflamatórios, com significativas reduções nos seus níveis plasmáticos (30,40,79,90-93). Contudo, a ultrafiltração modificada não era parte da rotina do trans-operatório dos pacientes operados no período do estudo. A mesma passou a ser realizada rotineiramente em todos os pacientes com indicação nos últimos dois anos. Estudos recentes discutem a eficácia da utilização de catéteres peritoneais em PO de neonatos como uma forma de retirada de mediadores inflamatórios. Bokesch e colegas compararam os níveis séricos e no líquido peritoneal de diversas interleucinas (incluindo IL-6 e IL-8) em PO cardíaco de neonatos. Estes autores encontraram níveis de IL-6 e IL-8 no líquido peritoneal superiores aos níveis plasmáticos, concluindo que o líquido peritoneal possa ser

um depósito destas citocinas no PO e sugerindo que a sua retirada através do catéter intraperitoneal possa contribuir para redução da SIRS nestes pacientes (94).

Estudos experimentais vem sendo desenvolvidos na tentativa de bloquear a ação das citocinas. Estudos clínicos preliminares, enfatizando o bloqueio de TNF- $\alpha$  e IL-1, os quais agem como estimuladores da secreção de IL-8, e também IL-6, parecem ser úteis para evitar uma resposta inflamatória exacerbada (SIRS), com risco de evolução desfavorável pós-CEC (9,88,95-97). A sua liberação para uso clínico depende de resultados baseados em grandes ensaios clínicos, os quais ainda não são disponíveis.

### **Conclusão**

Os dados apresentados permitem concluir que lactentes portadores de cardiopatia congênita apresentam níveis plasmáticos elevados de IL-6 e IL-8 em estado basal, os quais aumentam significativamente após a realização de cirurgia cardíaca com CEC. Não foi possível correlacionar este aumento com a evolução clínica destes pacientes. Os elevados níveis plasmáticos de IL-6 correspondem a níveis plasmáticos elevados de lactato, o qual é um marcador de má evolução clínica em diversos estudos presentes na literatura. Pacientes com baixo peso e menor idade, e com níveis séricos de lactato elevados, foram os que apresentaram pior evolução clínica definida como desenvolvimento de DMOS e óbito, independente dos níveis plasmáticos das interleucinas. Estudos com maior número de pacientes são necessários para evidenciar uma possível correlação clínica significativa entre as interleucinas IL-6 e IL-8 e a evolução dos pacientes no PO cardíaco.

**Agradecimentos**

Gostaríamos de agradecer à Dra. Lúcia Pellanda e ao Dr. Mário Wagner pela sua imprescindível contribuição na análise estatística dos dados.



**Tabela 1 – Cardiopatias Congênitas**

<b>Diagnósticos</b>	<b>Pacientes (n= 25)</b>
DSAV	11 (44%)
TOF	6 (24%)
CIV	3 (12%)
CIV + Coa	2 (8%)
CIA	1 (4%)
Válvula mitral em para-queda	1 (4%)
Truncus tipo II	1 (4%)

**Legenda:** n= número de pacientes, DSAV: defeito do septo átrio-ventricular, TOF: tetralogia de Fallot, CIV: comunicação inter-ventricular, CoA: coarctação de aorta, CIA: comunicação inter-atrial.

**Tabela 2: Características Demográficas da Amostra**

<b>Diagnóstico</b>	<b>Sexo</b>	<b>Idade (meses)</b>	<b>Peso (Kg)</b>	<b>Tipo de cirurgia</b>	<b>Desfecho</b>	<b>Lactato sérico (mmol/L) - média</b>
TOF	M	11	6,54	CT	Alta	2,3
DSAV	M	2	4,5	CT	Óbito	2,0
DSAV	M	7	3,5	CT	Alta	1,6
DSAV + EP valvar	M	5	4	CT	Óbito	1,3
CIV + CoA	M	7	6,2	CT	Alta	2,1
VM paraqueda	F	7	5,5	CT	Alta	1,3
CIV + CoA	M	5	4,0	CT	Alta	1,3
TOF	F	9	8,45	CT	Alta	2,9
Truncus tipo II	F	1,5	3,5	CT	Alta	
DSAV	M	6	4,35	CT	Alta	1,6
TOF	F	8	9,62	CT	Alta	1,2
TOF	M	8	8,3	CT	Alta	1,0
DSAV	F	5	4,5	CT	Alta	2,7
TOF	M	8	8,7	CT	Alta	1,3
CIV + PCA	F	3	4,08	CT	Alta	1,5
CIA	M	10	6,95	CT	Alta	1,1
DSAV	F	10	5,44	CT	Alta	2,5
DSAV	M	5	5,2	CT	Alta	2,6
DSAV	M	2	2,44	CT	Óbito	9,7
DSAV	F	4	2,75	CT	Óbito	2,0
DSAV	M	5	4,9	CT	Alta	1,9

TOF	F	9	5,7	CT	Alta	1,7
CIV	M	5	5,0	CT	Alta	1,3
DSAV + PCA	F	4	5,7	CT	Alta	1,6
CIV + BMVD	M	4	4,4	CT	Alta	1,3

**Legenda:** TOF: tetralogia de fallot, DSAV: defeito do septo átrio-ventricular, EP: estenose pulmonar, CIV: comunicação inter-ventricular, CoA: coarctação de aorta, CIA: comunicação inter-atrial, PCA: persistência do canal arterial, BMVD: bandas musculares de ventriculo direito, M: masculino, F: feminino, CT: correção total.

**Tabela 3: Variáveis Hemodinâmicas**

<b>Tempo</b>	<b>PAM</b>	<b>PVC</b>	<b>PAE</b>	<b>PAP</b>	<b>FC</b>	<b>Sat O2</b>
	<b>(mmHg)</b>	<b>(mmHg)</b>	<b>(mmHg)</b>	<b>(mmHg)</b>	<b>(bpm)</b>	<b>(%)</b>
1	65 ± 16	6 ± 4	-----	-----	134 ± 15	92 ± 9
2	70 ± 13	12 ± 8	11 ± 5	26 ± 5	144 ± 25	93 ± 4
3	67 ± 17	12 ± 5	13 ± 2	20 ± 7	144 ± 27	92 ± 4

**Legenda:** Valores expressos em média ± desvio padrão (DP). Tempo 1: indução anestésica, Tempo 2: 6 horas após a chegada na UTIP, Tempo 3: 24 horas após a cirurgia. PAM: pressão arterial média, PVC: pressão venosa central, PAE: pressão de átrio esquerdo, PAP: pressão média da artéria pulmonar, FC: frequência cardíaca, Sat O2: saturação percutânea de oxigênio

**Tabela 4: Níveis Plasmáticos de IL-6**

<b>Tempos</b>	<b>IL – 6 (pg/mL)</b>
Tempo 1 (indução anestésica)	10,5 (3,1 – 57,9)
Tempo 2 (6 horas após chegada UTIP)	116,5 (36,4 – 169,9)
Tempo 3 (24 horas após cirurgia)	41,5 (13,9 – 87,9)

**Legenda:** Valores expressos como mediana e intervalo inter-quartil 25-75.

**Tabela 5: Níveis Plasmáticos de IL-8**

<b>Tempos</b>	<b>IL-8 (pg/mL)</b>
Tempo 1 (indução anestésica)	64,9 (18,5 – 243,5)
Tempo 2 (6 horas após chegada na UTIP)	164,0 (30,3 – 337,4)
Tempo 3 (24 horas após a cirurgia)	93,3 (18,5 – 448,0)

**Legenda:** Valores expressos em mediana e intervalo inter-quartil 25-75.

### Legendas das Figuras

**Figura 1** – Valores de interleucina 6 (IL-6) nos diferentes momentos de coleta. Os níveis de IL-6 estão elevados durante a indução anestésica e persistem elevados nas 24 horas do pós-operatório. Existe diferença estatisticamente significativa entre os momentos 1 e 2 ( $p=0,003$ ), 2 e 3 ( $p=0,023$ ) e 1 e 3 ( $p=0,026$ ).

**Figura 2** - Valores de interleucina 8 (IL-8) nos diferentes momentos de coleta. Os níveis de IL-8 estão elevados durante a indução anestésica e persistem elevados nas 24 horas do pós-operatório. Existe diferença estatisticamente significativa somente entre o momento 1 e 2 ( $p=0,019$ ).

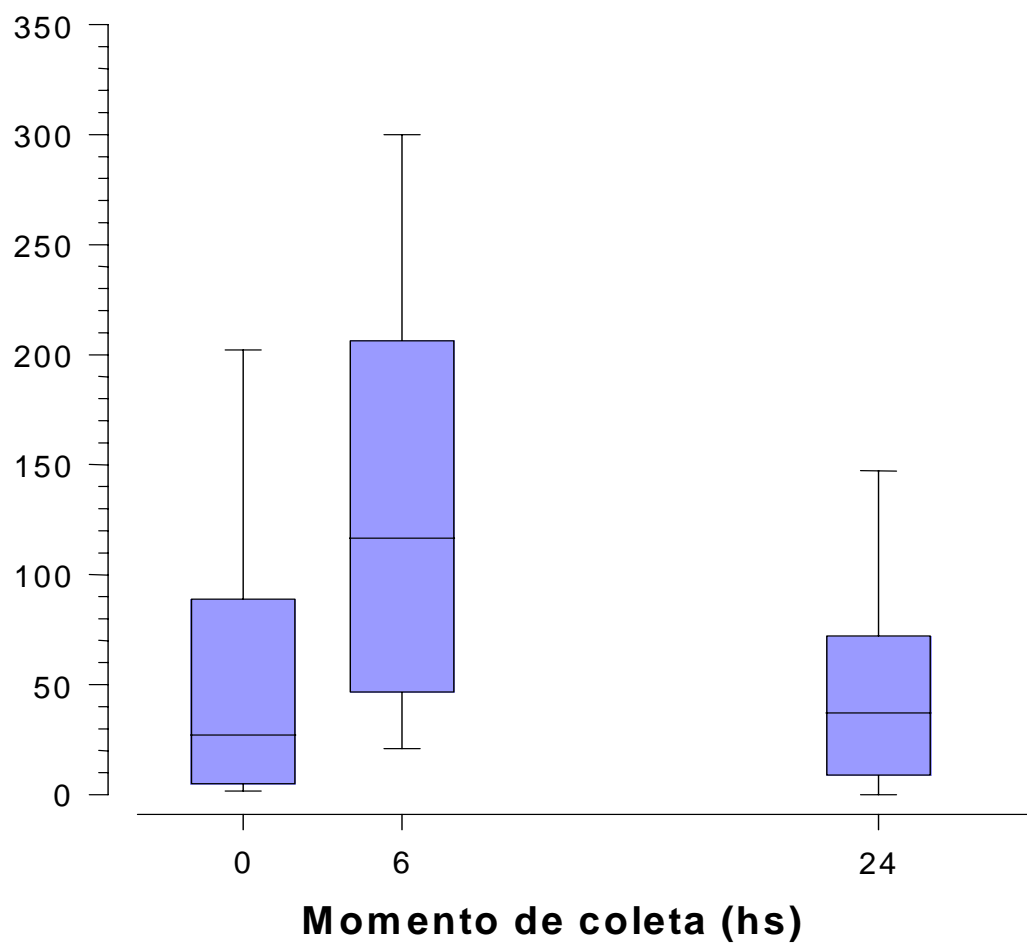
**Figura 3** - Correlação entre os níveis de interleucina 6 (logarítmo) no momento 2 (6 horas após a chegada na UTIP) e o tempo de CEC ( $r=0,44$ ,  $p=0,028$ ).

**Figura 4** – Correlação entre os níveis de interleucina 6 (logarítmo) no momento 2 (6 horas após a chegada na UTIP) e o lactato (logarítmo) coletado no mesmo momento ( $r=0,40$ ;  $p=0,047$ ).

**Figura 5** - Distribuição dos desfechos de acordo com o peso dos pacientes (ponte de coorte - 5 Kg) ( $p= 0,011$ ).

**Figura 6** – Distribuição dos desfechos de acordo com a idade dos pacientes (ponto de coorte – 5 meses) ( $p = 0,019$ ).

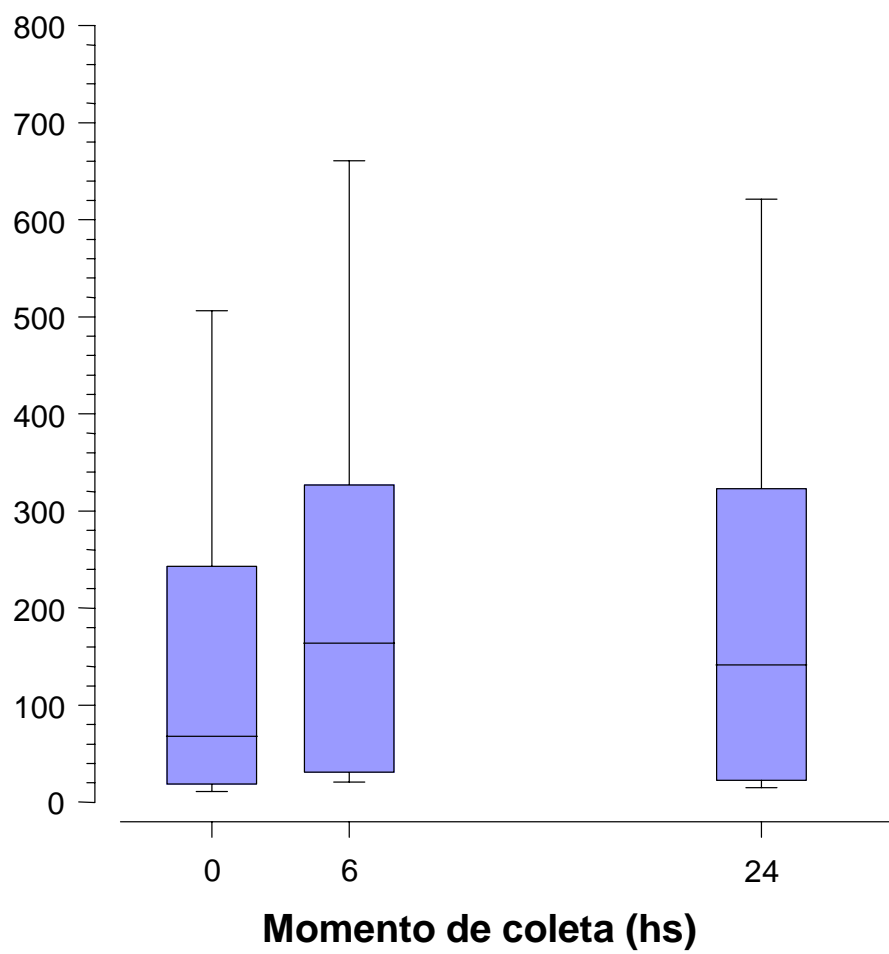
### Interleucina-6 (pg/mL)



**Figura 1**



### Interleucina-8 (pg/mL)



**Figura 2**

LN [Interleucina-6] (pg/mL)

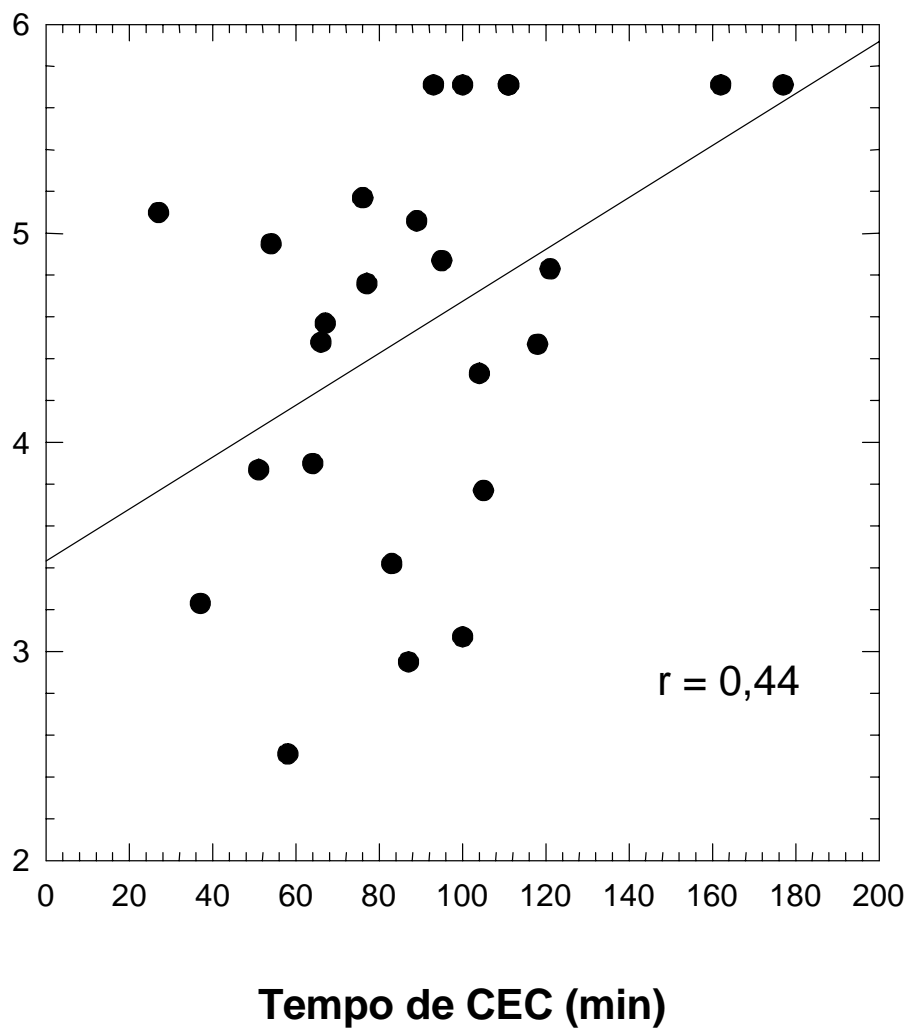


Figura 3

LN [Lactato] (mmol/L)

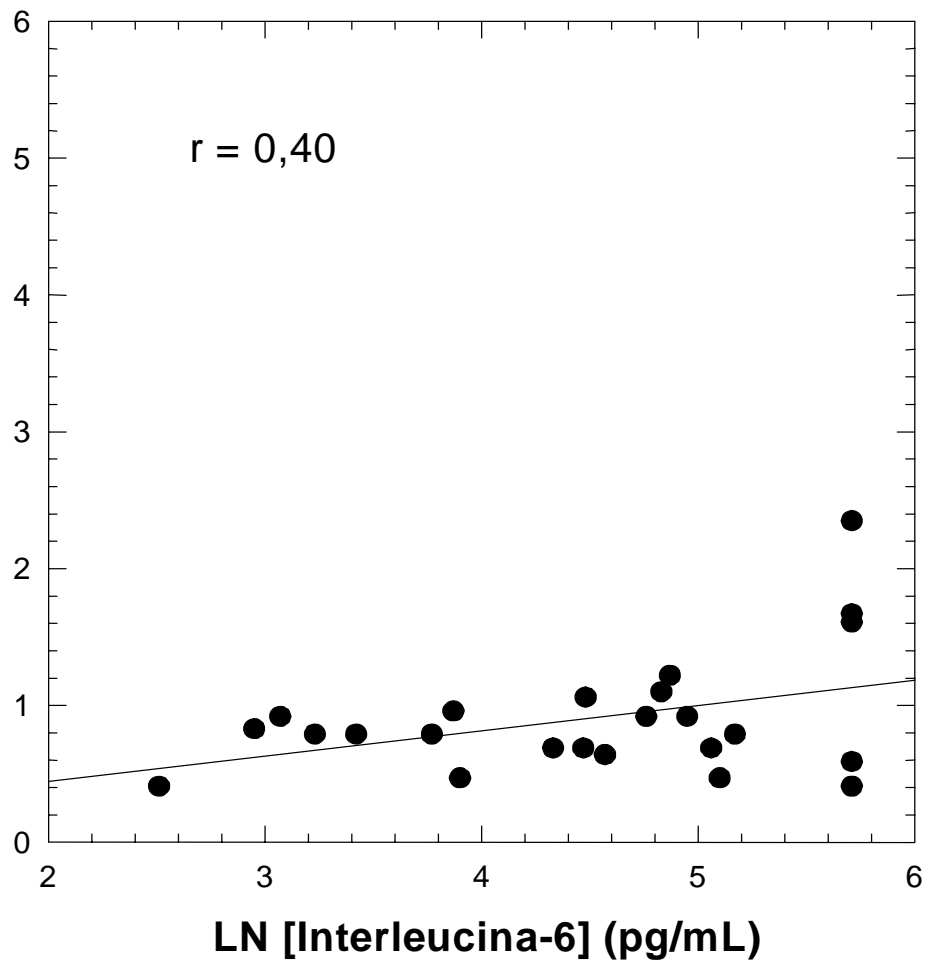
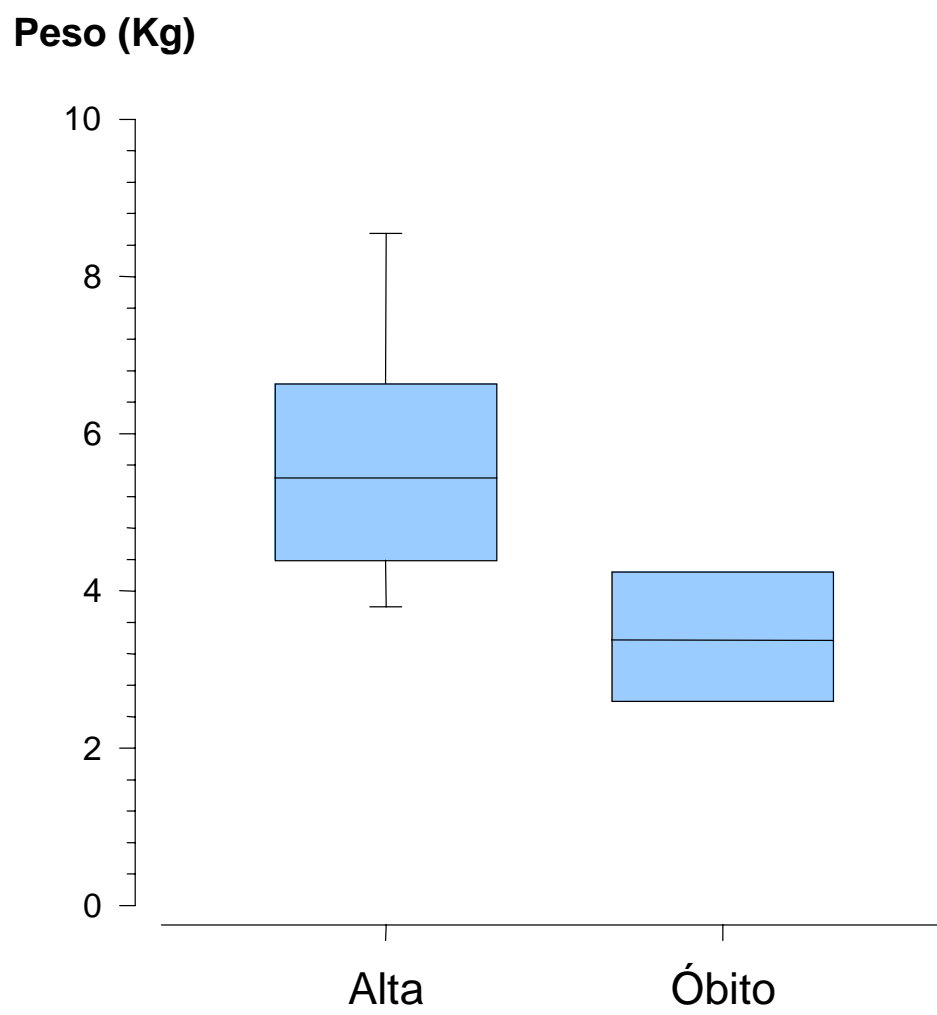
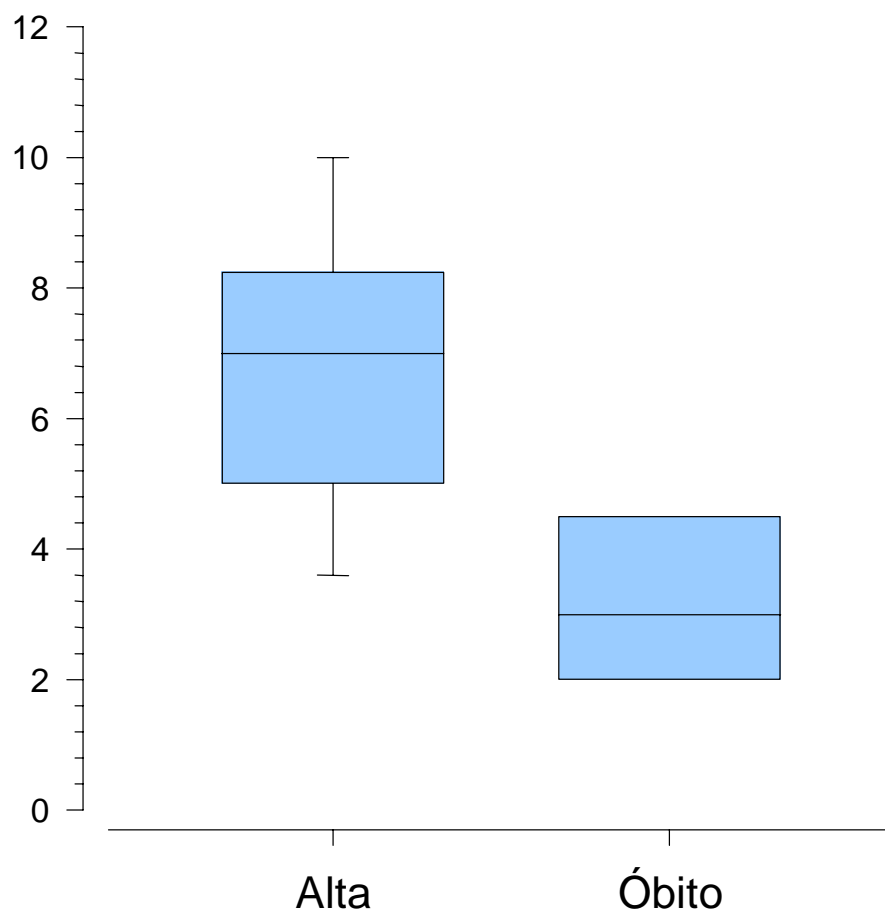


Figura 4



**Figura 5**

**Idade (meses)****Figura 6**

### Referências Bibliográficas

1. Castaneda AR, Mayer JE, Jonas RA, et al. The neonatal with critical congenital heart disease: repair – a surgical challenge. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989;98:869-75.
2. Hoffman JI, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(12):1890-900.
3. Chang AC, Hanley FL, Wernovsky G, Wessel DL: Pediatric Cardiac Intensive Care. Williams & Wilkins 1998, pg 151-162.
4. Rabinovitch M, Herrera-Deleon V, Castaneda AR, et al. Growth and development of the pulmonary vascular bed in patients with tetralogy of Fallot, with or without pulmonary atresia. *Circulation* 1981;64:1234-49.
5. Kirklin JW, Donald DE, Harshbarger HG, et al. Studies in extracorporeal circulation. I. Applicability of Gibbon-type pump-oxygenator to human intracardiac surgery: 40 cases. *Ann Thorac Surg* 1956;144:2-8.
6. Wan S, Le Clerc JL, Vincent JL. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass: mechanisms involved and possible therapeutic strategies. *Chest* 1997; 112:676-92.
7. Royston D. Systemic inflammatory responses to surgery with cardiopulmonary bypass: pathophysiological, therapeutic, and pharmacological considerations. *Anesth Analg* 1997;85:766-82.

8. Mojcik CF, Levy JH. Aprotinin and the systemic inflammatory response after cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2001;71:745-54.
9. Hall RI, Smith MS, Rucker G. The systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass: pathophysiological, therapeutic, and pharmacological considerations. *Anesth Analg* 1997;85:766-82
10. Lotan D, Zilberman D, Dagan O, et al. Beta-chemokine secretion patterns in relation to clinical course and outcome in children after cardiopulmonary bypass: continuing the search to abrogate systemic inflammatory response. *Ann Thorac Surg* 2001;71:233-7.
11. Grünenfelder J, Zünd G, Schoeberlein A, et al. Expression of adhesion molecules and cytokines after coronary artery bypass grafting during normothermic and hypothermic cardiac arrest. *Eur J Cardio-thorac Surg* 2000;17:723-28.
12. Downing SW, Edmunds LH. Release of vasoactive substances during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1992;54:1236-43.
13. Kongsgaard UE, Smith-Erichsen N, Geiran O, Amundsen E, Mollnes TE, Garred P. Different activation patterns in the plasma-kallikrein-kinin and complement systems during coronary bypass surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 1989;33:343-7.
14. Elliot MJ, Finn AHR. Interaction between neutrophils and endothelium. *Ann Thorac Surg* 1993;56:1503-8.
15. Seghaye MC, Duchateau J, Grabitz RG, et al. Complement activation during cardiopulmonary bypass in infants and children. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;106:6: 978-87.
16. Jagers JJ, Neal MC, Smith PK, et al. Infant cardiopulmonary bypass: a procoagulant state. *Ann Thorac Surg* 1999;68:513-20.

17. Johnson D, Thomson D, Hurst T, et al. Neutrophil – mediated acute lung injury after extracorporeal perfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;107:5:1193-1202.
18. Hashimoto K, Miyamoto H, Suzuki K, et al. Evidence of organ damage after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;104:666-73.
19. Misawa Y, Kawahito K, Konishi H, Fuse K. Cytokine mediated endothelial activations during and after normothermic cardiopulmonary bypass: heparin-bonded versus non-heparin bonded circuits. *ASAIO Journal* 2000;46:740-43.
20. Levy JH, Kelly AB. Inflammation and cardiopulmonary bypass. *Can J Anaesth* 1993;40:11:1009-15.
21. Butler J, Chong GL, Baigrie RJ et al. Cytokine responses to cardiopulmonary bypass with membrane and bubble oxygenation . *Ann Thorac Surg* 1992;53:833-8.
22. Hayashi Y, Sawa Y, Nishimura M, et al. P-selectin participates in cardiopulmonary bypass – induced inflammatory response in association with nitric oxide and peroxynitrite production. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;120:558-65.
23. Morris K, Beghetti M, Petros A, Adatia I, Bohn D. Comparison of hyperventilation and inhaled nitric oxide for pulmonary hypertension after repair of congenital heart disease. *Crit Care Med* 2000;28:2974-78.
24. Adamik B, Kielb JB, Golebiowska B, et al. Effect of sepsis and cardiac surgery with cardiopulmonary bypass on plasma level of nitric oxide metabolites, neopterin, and procalcitonin: correlation with mortality and postoperative complications. *Intensive Care Med* 2000;26:1259-67.
25. Batlouni M. Endotelinas e outros fatores vasoconstritores derivados do endotélio. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo* 1996;6(2):138-45.



26. Komai H, Adatia IT, Elliot MJ, et al. Increased plasma levels of endothelin-1 after cardiopulmonary bypass in patients with pulmonary hypertension and congenital heart disease. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;106:473-8.
27. Adatia I, Haworth SG. Circulating endothelin in children with congenital heart disease. *Br Heart J* 1993;69:233-36.
28. Carreaux JP, Roux S, Siaghy M, et al. Acute pulmonary hypertension after cardiopulmonary bypass in pig: the role of endogenous endothelin. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999;15:346-52.
29. Fortenberry JD, Huber AR, Owens ML. Inotropes inhibit endothelial cell surface adhesion molecules induced by interleukin-1b. *Crit Care Med* 1997;25:303-8.
30. van Deuren M, van der Meer JWM. Hemofiltration in septic patients is not able to alter the plasma concentration of cytokines therapeutically. *Intensive Care Med* 2000;26:1176-78.
31. Speziale G, Ferroni P, Ruvolo G, et al. Effect of normothermic versus hypothermic cardiopulmonary bypass on cytokine production and platelet function. *J Cardiovasc Surg* 2000;41:819-27.
32. Wan S, Yim APC. Cytokines in myocardial injury: impact on cardiac surgical approach. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999;16(suppl 1):S107-111.
33. Yamada H, Kudoh I, Toyoshima M, et al. Heparin-coated circuits reduce the formation of TNF during cardiopulmonary bypass. *Acta Anaesthesiol Scand* 1996;40:311-17.
34. Ozawa T, Yoshihara K, Koyama N, et al. Clinical efficacy of heparin-bonded bypass circuits related to cytokine responses in children. *Ann Thorac Surg* 2000;69:584-90.

35. Frering B, Philip I, Dehoux M, et al. Circulating cytokines in patients undergoing normothermic cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;108:4:636-41.
36. Duval ELIM, Kavelaars A, Veenhuizen L, et al. Pro- and anti-inflammatory cytokine patterns during and after cardiac surgery in young children. *Eur J Pediatr* 1999;158:387-93.
37. Habbal MHE, Carter H, Smith LJ, Elliot MJ, Strobel S. Neutrophyl activation in paediatric extracorporeal circuits: effect of circulation and temperature variation. *Cardiovasc Res* 1995;29(1):102-7.
38. Cremer J, Martin M, Redl H, et al. Systemic inflammatory response syndrome after cardiac operations. *Ann Thorac Surg* 1996;61:1714-20.
39. Chew MS, Brandslund I, Brix-Christensen V, et al. Tissue injury and the inflammatory response to pediatric cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology* 2001;94:745-53.
40. Wang MJ, Chiu IS, Hsu CH, et al. Efficacy of ultrafiltration in removing inflammatory mediators during pediatric cardiac operations. *Ann Thorac Surg* 1996;61:651-6.
41. Kotani N, Hashimoto H, Sessler DI, et al. Cardiopulmonary bypass produces greater pulmonary than systemic proinflammatory cytoquines. *Anest Analg* 2000;90:1039-45.
42. Bronicki RA, Backer CL, Baden HP, et al. Dexamethasone reduces the inflammatory response to cardiopulmonary bypass in children. *Ann Thorac Surg* 2000;69:1490-5.

43. Massoudy P, Zahler S, Tassani P, et al. Reduction of pro-inflammatory cytokine levels and cellular adhesion in CABG procedures with separated pulmonary and systemic extracorporeal circulation without an oxygenator. *Eur J Cardiothorac Surg* 2000;17:729-36.
44. Massoudy P, Zahler S, Becker BF, et al. Evidence for inflammatory responses of the lungs during coronary artery bypass grafting with cardiopulmonary bypass. *Chest* 2001;119:31-6.
45. Defraigne JO, Pincemail J, Larbuisson R, et al. Cytokine release and neutrophil activation are not prevented by heparin-coated circuits and aprotinin administration. *Ann Thorac Surg* 2000;69:1084-91.
46. Casey WF, Hauser GJ, Hannallah RS, et al. Circulating endotoxin and tumor necrosis factor during pediatric cardiac surgery. *Crit Care Med* 1992;20(8):1090-95.
47. Wan S, DeSmet JM, Barvais L, et al. Myocardium is a major source of proinflammatory cytokines in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;112:806-11.
48. Kawamura T, Wakusana R, Inada K. Interleukin – 10 and Interleukin – 1 receptor antagonists increase during cardiac surgery. *Can J Anaesth* 1997;44(1):38-42
49. Tárnok A, Hamsch J, Schneider P. Cardiopulmonary bypass-induced increase of serum interleukin-10 levels in children. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998;115:2:475-77.
50. Wan S, LeClerc JL, Vincent JL. Cytokine responses to cardiopulmonary bypass: lessons learned from cardiac transplantation. *Ann Thorac Surg* 1997; 63:269-76.

51. Seghaye MC, Duchateau J, Grabitz RG, et al. Influence of low-dose aprotinin on the inflammatory reaction due to cardiopulmonary bypass in children. *Ann Thorac Surg* 1996;61:1205-11.
52. Tárnok A, Hambsch J, Emmrich F, et al. Complement activation, cytokines, and adhesion molecules in children undergoing cardiac surgery with or without cardiopulmonary bypass. *Pediatr Cardiol* 1999;20:113-25.
53. Dreyer WJ, Phillips SC, Lindsey ML, et al. Interleukin 6 induction in the canine myocardium after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;120:256-63.
54. Corbi P, Rahmati M, Delwail A, et al. Circulating soluble gp130, soluble IL-6R, and IL-6 in patients undergoing cardiac surgery, with or without extracorporeal circulation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2000;18:98-103.
55. Hauser GJ, Ari JB, Colvin MP, et al. Interleukin-6 levels in serum and lung lavage fluid of children undergoing open heart surgery correlate with postoperative morbidity. *Intensive Care Med* 1998;24:481-86.
56. Ashraf S, Bhattacharya K, Tian Y, et al. Cytokine and S100B levels in paediatric patients undergoing corrective cardiac surgery with or without total circulatory arrest. *Eur J Cardio-thorac Surg* 1999;16:32-37.
57. Millar AB, Armstrong L, Linden J, et al. Cytokine production and hemofiltration in children undergoing cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993;56:1499-502.
58. 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;40:11:1016-21.

59. Ashraf SS, Tian Y, Zacharrias S, et al. Effects of cardiopulmonary bypass on neonatal and paediatric inflammatory profiles. *Eur J Cardiothorac Surg* 1997;12:862-8.
60. Borowiec JW, Hagman L, Totterman TH, et al. Circulating cytokines and granulocyte-derived enzymes during complex heart surgery. *Scand J Thor Cardiovasc Surg* 1995;29:167-74.
61. Hennein HA, Ebba H, Rodriguez JL, et al. Relationship of proinflammatory cytokines to myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 108:626-35.
62. Finkel MS, Hoffman RA, Shen L, et al. Interleukin-6 (IL-6) as a mediator of stunned myocardium. *Am J Cardiol* 1993;71:1231-2.
63. Kawamura T, Inada K, Okada H, et al. Methylprednisolone inhibits increase of interleukin 8 and 6 during open heart surgery. *Can J Anaesth* 1995;45:5:399-403.
64. Inaba H, Kochi A, Yorozu S. Suppression by methylprednisolone of augmented plasma endotoxin-like activity and interleukin-6 during cardiopulmonary bypass. *Br J Anaesth* 72;348-50.
65. Teoh KHT, Bradley CA, Gauldie J, Burrows H. Steroid inhibition of cytokine-mediated vasodilation after warm heart surgery. *Circulation* 1995;92[suppl II]:II-347-53.
66. Engelman RM, Rousou JA, Flack III JE, et al. Influence of steroids on complement and cytokine generation after cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1995;60:801-4.

67. Finn A, Naik S, Klein N, et al. Interleukin-8 release and neutrophil degranulation after pediatric cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;105:2:234-41.
68. Kalfin RE, Engelman RM, Rousou JA, et al. Induction of interleukin-8 expression during cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1993;88(5):II-401- II-406.
69. Jorens PG, Jongh RD, Backer WD, et al. Interleukin-8 production in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:890-5.
70. Marty C, Misset B, Tamion F, et al. Circulating interleukin-8 concentrations in patients with multiple organ failure of septic and nonseptic origin. *Crit Care Med* 1994;22:673-79.
71. Burns SA, Newburger JW, Xiao M, et al. Induction of interleukin-8 messenger RNA in heart and skeletal muscle during pediatric cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1995;92[suppl II]:II-315-21.
72. Grossi EA, Kallembach K, Chan S, et al. Impact of heparin bonding on Pediatric Cardiopulmonary bypass: a prospective randomized study. *Ann Thorac Surg* 2000;70:191-6.
73. Marie C, Muret J, Fitting C, et al. Reduced ex vivo interleukin – 8 production by neutrophils in septic and nonseptic systemic inflammatory response syndrome. *Blood* 1998;91(9):3439-46.
74. Gilliland HE, Armstrong MA, McMurray TJ. The inflammatory response to pediatric cardiac surgery: correlation of granulocyte adhesion molecule expression with postoperative oxygenation. *Anesth Analg* 1999;89:1188-91.

75. Gormley SMC, McBride WT, Armstrong MA, et al. Plasma and urinary cytokine homeostasis and renal dysfunction during cardiac surgery. *Anesthesiology* 2000;93:1210-6.
76. Töns M, Mihaljevic T, von Segesser LK, et al. Acute lung injury during cardiopulmonary bypass: are the neutrophils responsible? *Chest* 1995;108:1551-6.
77. Moat NE, Rebuck N, Shore DF, et al. Humoral and cellular activation in a simulated extracorporeal circuit. *Ann Thorac Surg* 1993;56:1509-14.
78. Seghaye MC, Duchateau J, Bruniaux J, et al. Interleukin-10 release related to cardiopulmonary bypass in infants undergoing cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;111:545-53.
79. Journais D, Pouard P, Greeley WJ et al. Hemofiltration during cardiopulmonary bypass in pediatric cardiac surgery. *Anesthesiology* 1994;81:5:1181-89.
80. Hunsche A, Botta A, Dalle Mulle L, Nogueira A, Molossi S. ICAM-1 and VCAM-1 levels are increased in infants with congenital heart defects and vary after CPB. *Pediatr Crit Care Med* 2002; no prelo
81. Dalle Mulle L, Botta A, Nogueira A, Delatorre N, Molossi S. Endothelin-1 levels positively correlates with outcome in infants undergoing open heart surgery. *Cardiol Young* 2001;11(suppl 1):84
82. Czerny M, Baumer H, Kilo J, et al. Inflammatory response and myocardial injury following coronary artery bypass grafting with or without cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardio-thorac Surg* 2000;17:737-42.
83. Dalle Mulle L, Ricachinewsky C, Santos C, et al: Serum lactate positively correlates with outcome in pediatric heart surgery. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31(5-Suppl C):342C

84. Hatherill M, McIntyre AG, Wattie M, et al: Early hyperlactataemia in critically ill children. *Intensive Care Med* 2000; 26(3):314-318
85. Carvalho MV, Maluf MA, Catani R, et al. Cytokines and pediatric open heart surgery with cardiopulmonary bypass. *Cardiol Young* 2001;11(1):36-43.
86. Zhu L, Wigle D, Hinek A, et al. The endogenous vascular elastase that governs development and progression of monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats is a novel enzyme related to the serine proteinase adipsin. *J Clin Invest* 1994;94(3):919-20.
87. Kawamura T, Inada K, Nara N, et al. Influence of methylprednisolone on cytokine balance during cardiac surgery. *Crit Care Med* 1999;27:3:545-48.
88. Dinarello CA, Gelfand JA, Wolff SM. Anticytokine strategies in the treatment of the systemic inflammatory response syndrome. *JAMA* 1993;269:14:1829-35.
89. Tayama E, Hayashida N, Fukunaga S, et al. High dose cimetidine reduces pro-inflammatory reaction after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2001;72:1945-9.
90. Andreasson S, Gothberg S, Berggren H, et al. Hemofiltration modifies complement activation after extracorporeal circulation in infants. *Ann Thorac Surg* 1993;56:1515-7.
91. Journois D, Pouard P, Rolland B, Lagarde M. Ultrafiltration allows to reduce cytokine plasma concentrations during pediatric cardiopulmonary bypass. *Contrib Nephrol* 1995;116:86-8.
92. Elliot MJ. Ultrafiltration and modified ultrafiltration in pediatric open heart operations. *Ann Thorac Surg* 1993;56:1518-22.



93. Heidemann SM, Ofenstein JP, Sarnaik AP. Efficacy of continuous arteriovenous hemofiltration in endotoxic shock. *Circulatory shock* 1994;44:183-87.
94. Bokesch PM, Kapural MB, Mossad EB, et al. Do peritoneal catheters remove pro-inflammatory cytokines after cardiopulmonary bypass in neonates? *Ann Thorac Surg* 2000;70:639-43.
95. Gillinov AM, Redmond JM, Zehr KJ, et al. Inhibition of neutrophil adhesion during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1994;57:126-33.
96. Kaul TK, Fields BL. Leucocyte activation during cardiopulmonary bypass: Limitations of the inhibitory mechanisms and strategies. *J Cardiovasc Surg* 2000;41:849-62.
97. Sawa Y, Shimazaki Y, Kadoba K, et al. Attenuation of cardiopulmonary bypass-derived inflammatory reactions reduces myocardial reperfusion injury in cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;111:29-35.

## **VI - ARTIGO EM INGLÊS**

## **Profile of IL-6 and IL-8 levels in the post-operative period of infants undergoing cardiopulmonary bypass**

Aline Medeiros Botta, Lisiane Dalle Mulle, Cláudia Ricachinevsky, Jarbas Oliveira, Aldemir Nogueira, Nilton Della Torre, Silvana Molossi Lawrence

From the Pediatric Cardiac Intensive Care Unit and Divisions of Pediatric Cardiology and Cardiovascular Surgery (AB, LDM, CR, NA, NDT, SML), Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, RS, Brazil; Post-Graduate Program in Cardiology (AB, LDM, SML), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

Address requests for reprints to: Aline Medeiros Botta, Pediatric Cardiac Intensive Care Unit and Division of Pediatric Cardiology, Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Rua Prof. Annes Dias, 285 - Porto Alegre, RS, CEP 90020-09, Brazil. E-mail: [abotta@terra.com.br](mailto:abotta@terra.com.br)

Financial support provided by FAPERGS (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul), Porto Alegre, RS, Brazil.

Keywords: interleukins, cardiopulmonary bypass, cardiac surgery, pediatric critical care, inflammatory mediators, congenital heart disease

**Abstract:**

*Objective:* The use of CPB to correct cardiac defects elicits a systemic inflammatory cascade, causing multiorgan dysfunction in infants submitted to this procedure. There is release of many inflammatory mediators, including IL-6 and 8. The objective of this study was to determine the levels of IL-6 and IL-8 in children submitted to cardiac surgery and their association with outcome (discharge or death), including cyanotic and acyanotic patients.

*Methods:* Case study, observational, prospective. Twenty five children were enrolled (>1month and < 1 year) admitted to the PICU after cardiac surgery with CPB between June 1998 and April 1999. Arterial blood samples were collected from each patient at three different time-points: 1 – during induction of anesthesia (baseline), 2 – 6 hours after arriving in the PICU, 3 – 24 hours after surgery. Each blood sample was centrifuged and the plasma collected and frozen until further analysis, using the ELISA quantitative method. For statistical analysis, the Student's *t* test, Mann Whitney, chi square, Fisher, Friedman analysis for paired samples, Pearson and Spearman's *r* correlation were used, considering an alpha value of 0.05.

*Results:* The plasmatic values of IL-6 and IL-8 were elevated in all patients during induction of anesthesia (time-point 1) and increased after CPB, being the highest value at 6 hours after arriving in the PICU (time-point 2) ( $p=0.003$  and  $p=0.019$ , respectively). The values decreased subsequently, although remaining elevated up to 24 hours after surgery above baseline values. It was not possible to establish a statistical significant correlation between elevated values of IL-6 and IL-8 and outcome. The analysis of hemodynamic variables (MAP, CVP, LAP, PAP, HR and O<sub>2</sub> Sat) and IL-6 and IL-8 values was also not statistically significant. The CPB time and IL-6 levels at time-point 2 had a positive

correlation ( $r=0.44$ ;  $p=0.028$ ), as well as elevated values of serum lactate at time-point 2 and IL-6 levels at the same time-point ( $r=0.40$ ;  $p=0.047$ ). The patients who died had lower weight ( $< 5$  Kg) ( $p=0.011$ ) and younger age ( $< 5$  months) ( $p=0.019$ ) compared to the patients discharged. Analyzing the IL values between cyanotic and acyanotic patients, there were no statistically significant differences between both groups, neither different outcomes.

*Conclusion:* This study demonstrates that IL-6 and IL-8 levels are elevated in children with congenital heart defects, and these increase after CPB. It was not possible to establish a correlation between elevated IL values and outcome. Patients with lower weight and younger age, as well as increased lactate values, had poorer outcome, independently of IL levels.

## **Introduction**

Due to recent advances in the surgical and anesthetic techniques allowing safe utilization of cardiopulmonary bypass (CPB) in very small children, surgery for definitive correction of congenital heart defects have become the procedure of choice in many institutions. It is estimated that for each 8 thousand live newborns, 8 to 9 will present with cardiac congenital malformations, with an appreciable number needing surgical intervention in the first year of life (1,2). Clearly, definitive correction of such defects has a significant impact in reducing the morbidity and mortality caused by the cardiac disease, in addition to reversing or impeding deleterious consequences imposed to the development of the maturing organ and systems in these children (1,3,4).

During CPB, patients are submitted to large swings in various physiologic functions, such as non-pulsatile blood flow, hemodilution, low perfusion pressure and hypothermia (15° a 32°C), being all these factors quite often accounted for the clinical complications encountered in the post-operative period (5,6). Cardiac surgery with CPB is able to elicit a systemic inflammatory cascade, which is clinically characterized by pathologic hypotension, fever of non-infectious origin, disseminated intravascular coagulation, diffuse tissue edema and, in most severe cases, multi-organ system failure (MOSF) (7,8).

The systemic inflammatory response can be initiated during cardiac surgery by many factors, including the contact between the blood and the foreign surfaces of the CPB circuit, the development of ischemia-reperfusion injury, and the presence of endotoxins (9). The activation of SIRS occurs through stimulation of both humoral and cellular mechanisms (8,10). Cytokines comprise a group of small proteins that act locally in target cells, inducing their growth, differentiation, chemotaxis and/or apoptosis. Synergistic

interactions between cytokines and these cells amplify the inflammatory response, by means of attracting leukocytes to the site of injury and further stimulation with release of other cytokines. These mediators can be produced by activated monocytes, macrophages, endothelial cells, amongst others (20).

Interleukin-6, produced by T cells, endothelial cells and monocytes, is a mediator of the acute phase response to injury (29). Cardiopulmonary bypass has been frequently associated with increase in IL-6 levels, but this can also be seen following other types of complex surgeries (8,32,33,36,38,45,50-58). The myocardium, after exposed to the ischemic-reperfusion injury, has been implicated as a major source of IL-6 following CPB (45). Its elevation tends to occur between 1 and 6 hours after surgery in both adults and children (53). It has also been shown that plasma levels of IL-6 can be attenuated with the use of steroids during CPB (40, 61-64).

Interleukin-8 acts as a potent chemotactic for neutrophils. Other properties attributed to this mediator are regulation of transendothelial migration of neutrophils, histamine release, and pulmonary injury associated with neutrophil sequestration in the lung post-CPB (9,30). These characteristics suggest that IL-8 may play a role in directing polymorphonuclear cells during the SIRS observed following termination of CPB (65). Elevations in the plasma concentrations of IL-8 have been described during cardiac surgery in adults and children (35, 41, 54, 56, 65-73). Circulating IL-8 peaks concomitantly, or may even precede, the peaks of IL-6 and the release of both interleukins is stimulated by TNF- $\alpha$  (65).

At this time, there is enough evidence to associate CPB with the development of SIRS observed in the post-operative period, which is commenced by the synthesis of various cytokines, including IL-6 and IL-8. There are conflicting data in the literature,

though, with regards to the actual moment of greater elevation of these interleukin levels in the post-operative period, on top of paucity of data correlating such levels with clinical and hemodynamic variables. Our primary objective was to determine the profile of IL-6 and IL-8 plasma levels in the post-operative period of infants undergoing heart surgery with CPB and, secondly, to determine a possible correlation between these levels and clinical outcome in such patients.

## **Materials and Methods**

### *Study Design*

Case study, prospective, observational.

### *Study Population*

From a total of 90 patients between one month and one year of age undergoing heart surgery with cardiopulmonary bypass at the Pediatric Cardiology Division in the Hospital São Francisco, Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, 25 were chosen to participate in the study. These patients were selected accordingly to the availability of sample collection and to the economic restrictions encountered for the measurement of the inflammatory mediators. The 25 patients underwent cardiac surgery with cardiopulmonary bypass between June 1998 and April 1999. Exclusion criteria were: patients in whom the proposed surgery was not performed, those who died during the trans-operative period, and those in whom an informed consent was not obtained by proxy. The study protocol was previously approved by the Ethics and Research Committee of Complexo Hospitalar Santa Casa and Hospital de Clínicas de Porto Alegre.



## **Surgical Management**

Anesthesia was induced with Fentanyl (10 µg/kg) + Midazolam (100-200 µg/kg) and Pancuronium (0.08 mg/kg). Maintenance was done with the same drugs, using Fentanyl and Midazolam in continuous IV infusion. Hydrocortisone (10 mg/kg) was administered at induction of anesthesia and at the beginning of CPB. Conventional CPB was used with one episode of aortic cross-clamping and a single dose of cardioplegia. After heparin (5mg/kg) was given, CPB was instituted at a perfusion flow rate of 2.4 L/m<sup>2</sup>/minute with moderate to deep hypothermia (28°C and 18°C, respectively). Aortic cross-clamping was done followed by infusion of cold blood cardioplegic solution. The CPB equipment consisted of a non-pulsatile roller pump, Lucchese® (Braile Biomedica, São Paulo, SP, Brazil) 0.25 or 0.50 membrane oxygenator and a Braile® venous cardiomy reservoir (Braile Biomedica, São Paulo, SP, Brazil). During CPB, the patient's hematocrit level was kept between 19% and 26%. Sodium nitroprusside was infused during the cooling period and discontinued in the re-warming period, when the patient's temperature reached 36°C. During and after the operation, all patients were given packed red blood cells and crystalloid or colloid solution to supplement circulating blood volume. Patients were weaned off bypass and a dopamine solution was initiated at a continuous infusion rate of 5 µg/kg/min. Cefazolin (40 mg/kg) was given as antibiotic prophylaxis unless the patient was in use of therapeutic antibiotics previously. The anesthesia team was kept unchanged for all patients, as well as the surgical team.

### **Blood Sampling**

Blood samples were collected from the arterial line placed in all patients at three different time points: 1) during induction of anesthesia (baseline); 2) 6 hours after arrival in the pediatric intensive care unit (PICU); 3) 24 hours post-operatively. A total of 2 ml of blood was withdrawn at every time point in EDTA containing vials. The samples were immediately centrifuged and the plasma collected and stored at -20°C until posterior analysis of the interleukins. Interleukin-6 and IL-8 levels were determined using ELISA assays that were run simultaneously and with samples in duplicate to minimize inter-assay variability. Commercially available ELISA assays for IL-6 and IL-8 were used, with the lower detection limit being a mean of 3.13 pg/ml for IL-6 and 31.2 pg/ml for IL-8 (R&D Systems, Minneapolis, MN,USA).

### **Variables Analyzed**

Variables analyzed in all patients were: age, weight, type of congenital heart defect, CPB and aortic cross clamp time, cooling temperature, use of vasoactive drugs (inotropes, vasodilators), serum lactate levels, development of multiple organ system failure (MOSF), hemodynamic data (mean arterial pressure - MAP, central venous pressure - CVP, left atrial pressure - LAP, pulmonary artery pressure - PAP, heart rate - HR, percutaneous oxygen saturation – O<sub>2</sub> Sat), IL-6 and IL-8 levels, and outcome (discharge or death). Multiorgan system failure was defined as failure of two or more organs or systems, such as cardiac, respiratory, renal, hepatic, neurologic (as described previously elsewhere) (15).

## **Statistical Analysis**

Results are presented as proportions for categorical variables, as mean  $\pm$  standard deviation (SD) for variables with normal distribution, and median with interquartil interval for variables with asymmetric distribution. The Student's *t* test and Mann Whitney test were used to compare quantitative variables between two groups, and the chi square test and Fisher test were applied to compare categorical variables. To perform parametric tests it was used logarithmic function to correct the asymmetry of the IL-6, IL-8 and lactate. Friedman analysis for paired samples was used to study IL-6 and IL-8 levels in the different time-points. The Spearman and Pearson's *r* correlation were utilized to study the association between interleukin levels and other variables. An alpha of 0.05 was considered significant for all variables studied. Data were processed and analyzed using the program Statistics Package for Social Science (SPSS) 8.0.

## **Results**

### **Patients Demographics and Clinical Characteristics**

Between June 1988 and April 1999, 25 infants undergoing heart surgery with CPB for congenital heart defects were studied. Fifteen (60%) patients were male. The mean age was  $6 \pm 2.65$  months e the mean weight was  $5.36 \pm 1.86$  Kg. Eighteen (72%) were acyanotic and 7 (28%) cyanotic. Eleven (44%) patients had atrioventricular septal defect (AVSD) and 6 (24%) had Tetralogy of Fallot. Five (20%) patients had Down's syndrome. The different diagnoses in all patients studied are shown in table 1. Table 2 displays patients' demographics, type of surgery, outcome and lactate levels.

The mean CPB time was  $89.3 \pm 34.6$  minutes, the aortic cross-clamp time was  $52.2 \pm 21.6$  minutes and the mean cooling temperature was  $27 \pm 3.4^{\circ}\text{C}$ . All patients received dopamine infusion and 9 (36%) patients also required the addition of milrinone. In 11 (44%) patients, a third drug (inotrope: adrenaline, isuprenaline or vasodilator: sodium nitroprusside or nitroglycerine) was added to the dopamine and milrinone. The hemodynamic variables are shown in table 3.

Seven (28%) patients developed MOSF. From the total of 25 patients, 21 (84%) were discharged home and 4 (16%) died during the PICU stay. Three patients died due to the development of pulmonary hypertension leading to poor cardiac output, and one patient underwent surgical re-intervention two weeks into the post-operative period, ultimately dying with poor cardiac output with subsequent MOSF. All deceased patients had AVSD, with two also presenting a diagnosis of Down's syndrome.

#### *Plasma Levels of IL-6 and IL-8*

The plasma levels of IL-6 and IL-8, expressed as median and interquartil interval, in the different time points are listed in tables 4 and 5, respectively. The values observed for both interleukins were elevated in all patients at baseline (during induction of anesthesia) and displayed subsequent increase after CPB, peaking at 6 hours after arrival in the PICU, decreasing afterwards although still maintaining levels above those seen at baseline 24 hours post-operatively.

There was a statistically significant difference in IL-6 levels between those seen at baseline (time-point 1) and at six hours post-arrival in the PICU (time-point 2), were higher values were appreciated ( $p=0.003$ ). Between time-point 2 and time-point 3 (24 hours post-operatively), the levels decline significantly ( $p=0.023$ ), albeit remaining above baseline

( $p=0.026$ ) (Fig. 1). Similar pattern was seen with IL-8, where a statistically significant increase could be demonstrated between time-point 1 and time-point-2 ( $p=0.019$ ), levels that further decreased at 24 hours post-operatively (time-point 3), though not statistically significant ( $p=0.42$ ). Likewise, levels at time-point 3 were not significantly different from those observed during induction of anesthesia (baseline) ( $p=0.476$ ) (Fig. 2).

Analyzing the plasmatic concentrations of IL-6 and IL-8 at the different time-points with CPB time, cross-clamp time and cooling temperature, a positive correlation could be appreciated between IL-6 (logarithm) at time-point 2 and CPB time (6 hours after arrival in the PICU) ( $r=0.44$ ,  $p=0.028$ ) (Fig 3). All other correlation did not show statistical significance. Considering serum lactate levels, a positive correlation between IL-6 and serum lactate (logarithm) at time-point 2 was observed ( $r=0.40$ ,  $p=0.047$ ) (Fig 4).

Considering hemodynamic variables (MAP, CVP, PAP, LAP, HR, O2 Sat) and levels of IL-6 and IL-8, no statistically significant correlation could be shown, except for a negative correlation between PAP and IL-6 at time-point 2 (6 hours after arrival in the PICU) ( $r=-0.85$ ,  $p=0.007$ ).

Increased levels of IL-6 and IL-8 did not show a positive correlation with the development of MOSF or outcome to either discharge or death. The patients who died had lower weight - less than 5 Kg ( $p=0.011$ ) and younger age - less than 5 months ( $p=0.019$ ) (Fig 6 and Fig 7, respectively). Similar observations could be made when serum lactate levels were plotted, where a positive correlation with death was seen with lactate values at 6 hours after arrival in the PICU (time-point 2) ( $r=0.47$ ;  $p=0.022$ ).

### *Analysis of Data in Cyanotic and Acyanotic Patients*

Assessing the data comparatively between cyanotic (7) and acyanotic (18) patients, higher levels for IL-6 could be appreciated in acyanotic patients ( $p=0.016$ ). On the other hand, analyzing the IL-8 data, statistically significant higher levels were seen in cyanotic patients ( $p=0.044$ ). All other comparisons were not significantly different between both groups and the variables studied.

### **Discussion**

Although cardiac surgery with CPB is routinely undertaken without significant clinical sequela, a small number of patients develop a generalized inflammatory reaction with a clinical picture similar to the systemic inflammatory syndrome observed in septic or trauma patients. This inflammatory response is, in the majority of patients, self-limited, representing a temporary event of inflammatory reaction to tissue injury (39,72).

The pathogenesis of this process is multifactorial and involves the activation of the coagulation, fibrinolytic, and complement cascades. This phenomenon is followed by the release of cytokines, chemotaxis of neutrophils and expression of vascular adhesion molecules. Subsequently, leukocytes and platelets are activated and recruited to the sites of injury, adhering to the microvasculature endothelium with ensuing transendothelial migration. Once infiltrated into tissues, oxidative reactions generate reactive oxygen species which perpetuate the endothelial injury (77).

Pediatric patients are particularly susceptible to the untoward effects of CPB. The small circulating blood volume present in these patients determines a relatively greater

proportion of contact between the blood and the surface of the CPB circuit comparatively to adults. Thus, leading to a greater activation of the inflammatory cascade. The immaturity present in organs and systems of children could also play a role, posing to these patients a greater vulnerability to insults.

Children, particularly in the first few months of life, have a greater tendency to develop capillary leak and edema in the post-operative period, especially those with longer CPB times (59,77,78). Neonates and younger infants also display abnormal or incomplete activity of the complement system, besides carrying an immature immunologic system, all these factors contributing to increased risk of cellular injury following CPB. These immature responses do develop differentiation and achieve maturity by the end of the first year of life.

Cytokines are important mediators of the systemic response to CPB and cardiac surgery. Among the most important studied thus far are included: IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-8, which are detected in the peripheral blood stream in the immediate post-operative period. The action of these pro-inflammatory cytokines is counteracted by the simultaneous release of anti-inflammatory cytokines, such as IL-10, IL-1ra and TNF- $\alpha$  sr (39,48,49,51). Contrary to the adults, the cytokine response in children following CPB seems to be less understood. The balance between the inflammatory and anti-inflammatory response is likely critical to determine the extension of tissue injury and, consequently, its clinical representation and outcome.

Several studies have shown that the cytokines known as pro-inflammatory, IL-6 and IL-8, are elevated after CPB in both children and adults (8,31,34,35,37,38,40,43,52-60,67,68,70-75). Our study, specifically, demonstrated levels of IL-6 and IL-8 well above those detected by the kits used in the assays in all patients, even at baseline (during

induction of anesthesia). According to the data published by Corbi et al, IL-6 levels in adults are not expected to exceed 20 pg/ml (54). As well, in healthy children, it is usually not possible to measure relevant concentrations of IL-6 and IL-8 (36). Notwithstanding, in the study done by Duvall and colleagues, IL-6 levels were not observed in patients of similar age (infants) as those included in our study and bearing a diagnosis of AVSD (36). Interestingly, in patients below the age of two months admitted for cardiac surgery due to complex congenital malformations, these same authors did observe increased levels of IL-6 pre-operatively. Tárnok et al (52) and Bronicki et al (42) also could not show baseline heightened levels for IL-6 and IL-8 in children undergoing heart surgery, which could be due to the older age presented by these patients (greater than 2 and 5 years, respectively), perhaps denoting an age-specific response which seems to be more prominent at a younger age. Data present in the literature support such inference, where higher cytokine levels are seen in younger patients (36,57). The presence of increased levels in the pre-operative period may reflect the hemodynamic instability characteristic of non corrected cardiac defects, where altered blood flow and sheer stress lead to endothelial activation and release of inflammatory mediators.

The pattern of increase in both IL-6 and IL-8 levels in this study was similar to what has been described in the literature by several authors (8,11,19,21,31,34,35-38,40,43,45,52-60,63,67,68,71-75). A significant increase was observed in the levels of both interleukins six hours after arrival in the PICU, as compared to baseline levels, subsequently decreasing at 24 hours post-operatively though not reaching pre-operative levels, as was seen in other studies present in the literature (34,52,55,56,57,67,71,78,79). This sudden rise in IL-6 and IL-8 levels post-CPB confirms the idea that re-warming and ischemic-reperfusion injury may be responsible, at least partly, for the systemic release of these mediators (59). In



children, it has been demonstrated that IL-8 peaks usually between 1 and 4 hours after re-warming, although very high levels (>200 pg/ml) can be appreciated up to six hours after the primary insult (67). With IL-6, the peak usually occurs between 4 and 6 hours following the insult, but levels can be detected in the plasma between 30 minutes and 2 hours after the insult (9).

Finn and colleagues were able to demonstrate a positive correlation between CPB time and increased IL-8 levels in the plasma (67). In the present study, such correlation could not be reached. Nevertheless, when analyzing CPB time and IL-6 levels six hours after arrival in the PICU (time-point 2), a positive correlation could be appreciated. In other words, longer CPB times determined greater increase in IL-6 levels six hours after termination of the initial insult, where resides the peak of release of these inflammatory mediators. In our previous studies, such finding was also observed with regards to ET-1, ICAM-1 and VCAM-1 levels (80,81). Dreyer et al, using a canine animal model, was able to show that there is production of IL-6 by cardiomyocytes as a result of a hypoxic/ischemic injury followed by reperfusion (53). It is of note that in data published by Wan et al, increased levels of IL-6 were related to the surgical trauma per se and not necessarily with the use of CPB in cardiac surgery (32,34,82). We can not comment on such data since our study did not include cardiac surgery without the use of CPB, which clearly induces an amplified cascade of events following the insult.

Routinely, serum lactate is used as an important marker of organic dysfunction in the immediate post-operative period of cardiac patients. Several authors have demonstrated,, that increased lactate levels are correlated with bad prognosis in children after cardiac surgery (83-85). Our data showed a positive correlation between IL-6 levels and lactate levels at six hours after arrival in the PICU. Such findings support the thinking

that an amplified inflammatory reaction, mirrored by elevated IL-6 and IL-8 levels at different time-points following the initial insult, is translated clinically by a more profound compromised of physiologic functions, which is represented by high lactate levels, a well established marker of tissue demise post-operatively.

The correlation between hemodynamic variables and interleukin levels did not achieve statistical significance, except between PAP and IL-6 at time-point 2, observation that lacks support in the literature. Frering and colleagues, studying IL-6 and IL-8 in ten adult patients submitted to normothermic CPB, could not demonstrate any correlation between interleukin levels and MAP or systemic vascular resistance (35). The limited number of patients in their study as well as in ours may explain the absence of significant findings in such analyses.

Seven of the 25 patients studied presented with MOSF during the post-operative course and 4 eventually died in the same admission. Our cohort of patients included infants, a great number of which presenting with severe lesions that required corrective surgical intervention during the first year of life. Unlike what could be expected, it was not possible to correlate increased interleukin levels with worse outcome, being that either development of MOSF or death. That may be related to the paucity in the number of patients studied. Puzzling is the fact that IL-6 and IL-8 levels in those patients who died did not correspond to the higher levels observed in this group of patients analyzed, data also observed by other authors (52). Clearly, at the same time that elucidating the role of inflammatory mediators post-cardiac surgery does contribute to the understanding of this complex inflammatory syndrome seen after CPB, various other factors add importantly for the final outcome of these patients.

The variables that significantly and positively correlated with worse outcome (death) were younger age and lower weight. This finding is not surprising when one assesses risk factors for cardiac surgery (59). Likewise, serum lactate levels at six hours after arrival in the PICU correlated positively with death.

Undertaking specific analyses of interleukin levels and all the variables studied as well as outcome separately in cyanotic and acyanotic patients, no significant differences could be appreciated. It is clear in the literature that some of the mediators released after CPB are increased in acyanotic patients, as is the case of ET-1, likely related to increased pulmonary blood flow (27). In our study, IL-8 levels were higher in cyanotic compared to acyanotic patients, fact that may be related to the presence of increased levels of elastase, as demonstrated by Tonz and colleagues during cardiac surgery (76). Elegant experiments done in animal models associate the induced development of pulmonary hypertension leading to hypoxia and augmented levels of endogenous vascular elastase (86).

Several studies aimed at assessing the efficacy of anti-inflammatory measures, such as the use of steroids during induction of anesthesia, as a means of abating the systemic inflammatory response induced by CPB (9,63,65,66,87,88). Some investigators were able to show, in well controlled studies, that there is a reduction in the levels of IL-6 and IL-8 following the administration of steroids at the time of CPB (63,65,66,87). In this study, steroids were given to all patients included, what removes this as a potential variable influencing our results.

Various other anti-cytokine strategies are present in the literature with conflicting results (29,89). Despite the theoretical advantages of aprotinin, an inhibitor of the coagulation cascade, its application remains to be confirmed (8,51). The use of hemofiltration or modified ultrafiltration at the end of CPB has been described as an

efficacious means of removing inflammatory mediators, with considerable reduction in their plasma levels (30,40,79,90-93). However, modified ultrafiltration was not part of the routine trans-operative protocol during the time frame the study was undertaken in our service. It indeed became part of the routine protocol in the last two years. Recent study brought about the discussion on the validity of peritoneal catheters in the post-operative period of neonates as a tool to remove inflammatory mediators. Bokesch et al compared serum levels with levels in the peritoneal fluid of several cytokines (including IL-6 and IL-8) in the post-operative period of neonates. These authors found higher levels of IL-6 and IL-8 in the peritoneal fluid compared to plasma levels, concluding that peritoneal fluid may serve as a reservoir of cytokines in the post-operative period and suggesting that their removal, through catheter drainage, may contribute to a decreased systemic inflammatory response following CPB (94).

Experimental studies have been developed tentatively to block the effect of distinct cytokines. Initial clinical trials blocking IL-1 and TNF- $\alpha$ , which are inductors of IL-6 and IL-8 release, seem to have a role in controlling an overt systemic inflammatory cascade with potential unfavorable outcome post-CPB (9,88,95-97). The extension of such findings to a broad clinical practice relies on the results of larger clinical trials yet to be available in the literature.

## **Conclusion**

The data presented in this study allow us to conclude that infants with congenital heart defects display increased plasma levels of IL-6 and IL-8 at baseline, which augment substantially following CPB. We were unable to demonstrate a correlation between enhanced interleukin expression in the circulating plasma with outcome of these patients.

Increased plasma levels of IL-6 correspond to high serum lactate levels, the latter being a marker of worse prognosis in several studies present in the literature. Younger patients and with lower weight, together with elevated lactate levels, had the worse prognosis as judged by development of MSOF or death, independent of interleukin levels. Further studies with a larger number of patients are warranted to better defined a possible correlation between IL-6 and IL-8 levels and outcome in children following cardiac surgery with CPB.

#### **Acknowledgements**

We would like to thank Dr. Lúcia Pellanda and Dr. Mário Wagner for their invaluable contribution in the statistical analysis of data.

## Tables

**Table 1 – Diagnoses of Congenital Heart Defects**

Congenital Heart Defect	Patients (n= 25)
AVSD	11 (44%)
TOF	6 (24%)
VSD	3 (12%)
VSD + aortic coarctation	2 (8%)
ASD	1 (4%)
Parachute mitral valve	1 (4%)
Truncus type II	1 (4%)

**Legend:** n= number of patients, AVSD: atrioventricular septal defect, TOF: tetralogy of Fallot, VSD: ventricular septal defect, ASD: atrial septal defect.

**Table 2: Patients Demographics**

<b>Diagnosis</b>	<b>Sex</b>	<b>Age (months)</b>	<b>Weight (Kg)</b>	<b>Type of surgery</b>	<b>Outcome</b>	<b>Lactate (mmol/L) - mean</b>
TOF	M	11	6,54	TC	Discharge	2,3
AVSD	M	2	4,5	TC	Death	2,0
AVSD	M	7	3,5	TC	Discharge	1,6
AVSD + PS	M	5	4	TC	Death	1,3
VSD + aortic coarctation	M	7	6,2	TC	Discharge	2,1
Parachute mitral valve	F	7	5,5	TC	Death	1,3
VSD + aortic coarctation	M	5	4,0	TC	Discharge	1,3
TOF	F	9	8,45	TC	Discharge	2,9
Truncus type II	F	1,5	3,5	TC	Discharge	
AVSD	M	6	4,35	TC	Discharge	1,6
TOF	F	8	9,62	TC	Discharge	1,2
TOF	M	8	8,3	TC	Discharge	1,0
AVSD	F	5	4,5	TC	Discharge	2,7
TOF	M	8	8,7	TC	Discharge	1,3
VSD + PDA	F	3	4,08	TC	Discharge	1,5
ASD	M	10	6,95	TC	Discharge	1,1
AVSD	F	10	5,44	TC	Discharge	2,5
AVSD	M	5	5,2	TC	Discharge	2,6
AVSD	M	2	2,44	TC	Death	9,7

AVSD	F	4	2,75	TC	Discharge	2,0
AVSD	M	5	4,9	TC	Discharge	1,9
TOF	F	9	5,7	TC	Discharge	1,7
VSD	M	5	5,0	TC	Discharge	1,3
AVSD + PDA	F	4	5,7	TC	Discharge	1,6
VSD + RVMB	M	4	4,4	TC	Discharge	1,3

**Legends :**TOF: tetralogy of fallot, AVSD: atrioventricular septal defect, PS: pulmonary stenosis, VSD: ventricular septal defect, ASD: atrial septal defect, PDA: persistent ductus arteriosus, RVMB: right ventricular muscle bands, M: masculine, F: feminine, TC: total correction.



**Table 3: Hemodynamic Variables**

Time-point	MAP (mmHg)	CVP (mmHg)	LAP (mmHg)	PAP (mmHg)	HR (bpm)	O2 Sat (%)
1	65 ± 16	6 ± 4	-----	-----	134 ± 15	92 ± 9
2	70 ± 13	12 ± 8	11 ± 5	26 ± 5	144 ± 25	93 ± 4
3	67 ± 17	12 ± 5	13 ± 2	20 ± 7	144 ± 27	92 ± 4

**Legends:** Values expressed in mean ± standard deviation (SD). Time-point 1: anesthetic induction, Time-point 2: 6 hours after arriving in PICU, Time-point 3: 24 hours after the surgery. MAP: mean arterial pressure, CVP: central venous pressure, LAP: left atrial pressure, PAP: pulmonary arterial pressure, HR: heart rate, O2 Sat: percutaneous oxygen saturation

**Table 4: Plasmatic Levels of IL-6**

<b>Time-points</b>	<b>IL-6 (pg/mL)</b>
Time-point 1 (induction of anesthesia)	10,5 (3,1 – 57,9)
Time-point 2 (6 hours after arriving PICU)	116,5 (36,4 – 169,9)
Time-point 3 (24 hours after surgery)	41,5 (13,9 – 87,9)

**Legends:** Values expressed as median and interquartil interval (25-75).

**Table 5: Plasmatic Levels of IL-8**

<b>Time-points</b>	<b>IL-8 (pg/mL)</b>
Time-point 1 (induction of anesthesia)	64,9 (18,5 – 243,5)
Time-point 2 (6 hours after arriving PICU)	164,0 (30,3 – 337,4)
Time-point 3 (24 hours after surgery)	93,3 (18,5 – 448,0)

**Legends:** Values expressed as median and interquartile interval (25-75).

## Figure Legends

**Figure 1** – Interleukin-6 (IL-6) values are shown at the different time points. The IL-6 values are increased at induction of anesthesia and remain elevated at 24 hours post-operatively. There was a statistically significant difference between time point 1 and 2 ( $p=0.003$ ), 2 and 3 ( $p=0.023$ ) and 1 and 3 ( $p=0.026$ ).

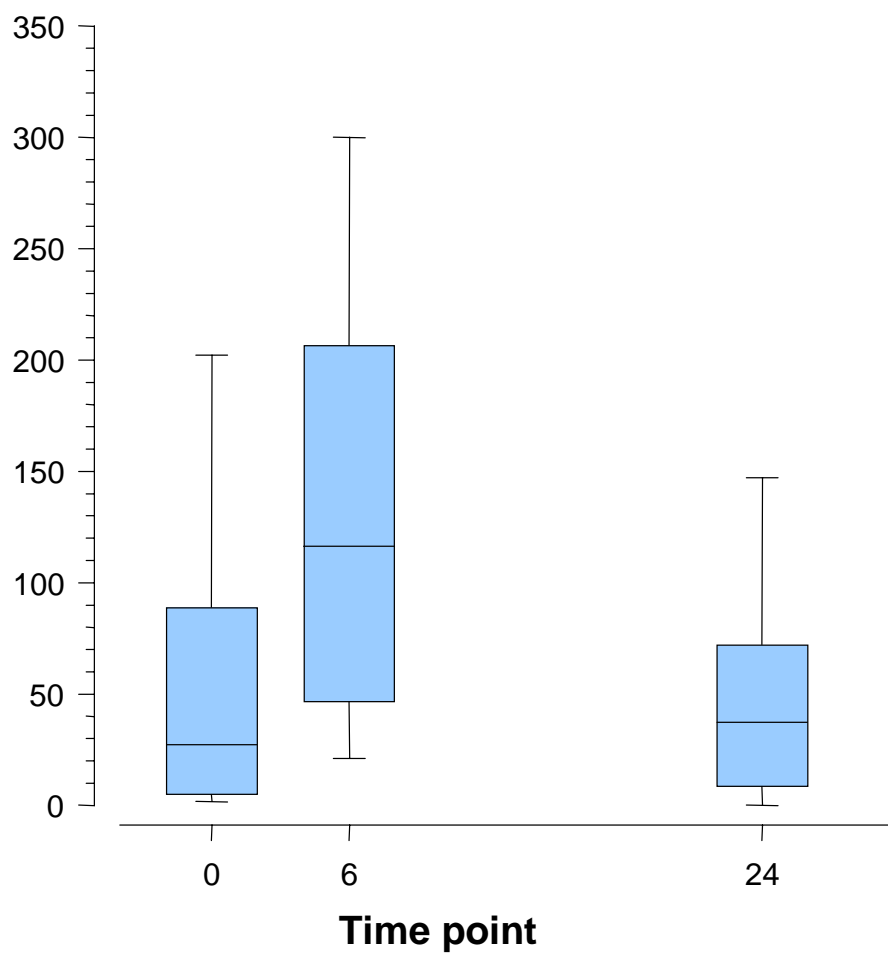
**Figure 2** - Interleukin-8 (IL-8) values are depicted at the different time points. The IL-8 values are increased at induction of anesthesia and remain elevated at 24 hours post-operatively. There was a statistically significant difference only between time point 1 and 2 ( $p=0.019$ ).

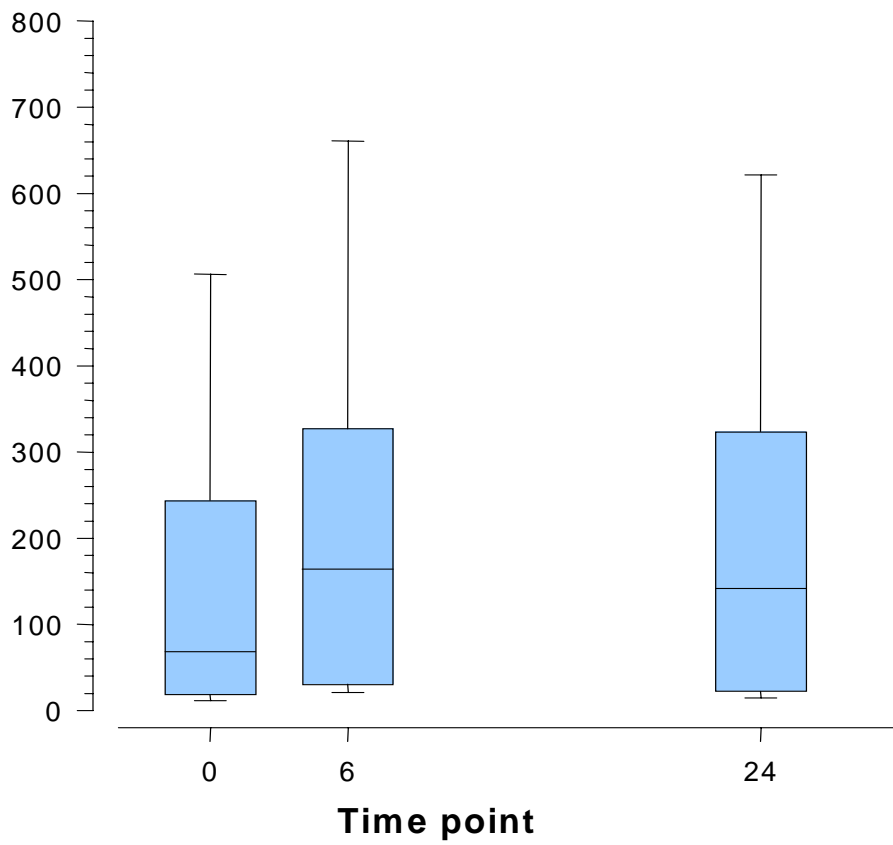
**Figure 3** – Correlation between IL-6 values (logarithm) at time point 2 (6 hours after arriving in the PICU) and CBP time ( $r=0.44$ ;  $p=0.028$ ).

**Figure 4** – Correlation between IL-6 values (logarithm) at time point 2 (6 hours after arriving in the PICU) and serum lactate (logarithm) in the same time point ( $r=0.40$ ;  $p=0.047$ ).

**Figure 5** – Distribution of outcomes according to the patients' weight (cut off – 5 Kg) ( $p=0.011$ ).

**Figure 6** – Distribution of outcomes according to the patients' age (cut off – 5 months) ( $p=0.019$ ).

**Interleukin-6  
(pg/mL)****Figure 1**

**Interleukin-8  
(pg/mL)****Figure 2**

LN[Interleukin-6]  
(pg/mL)

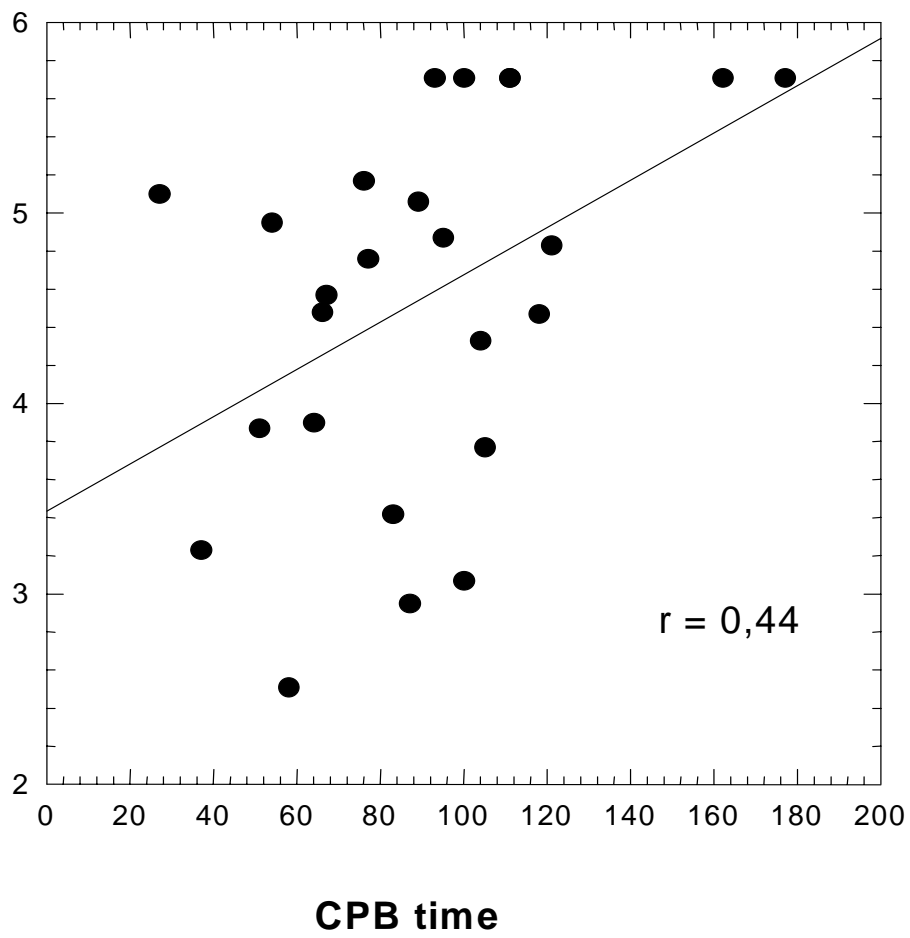
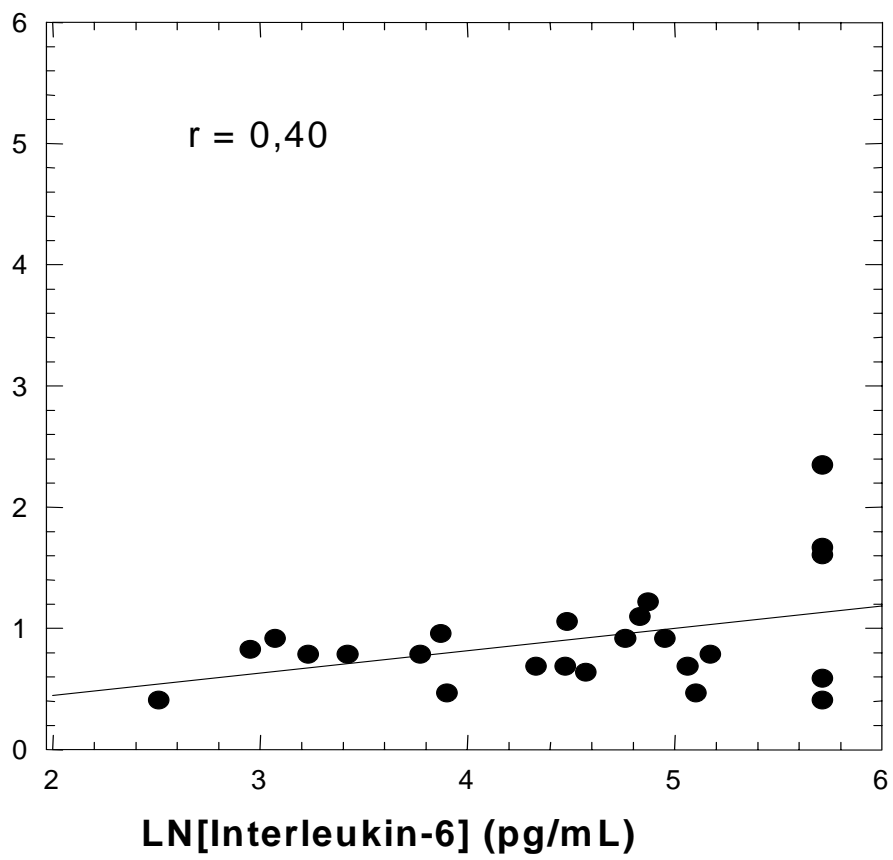


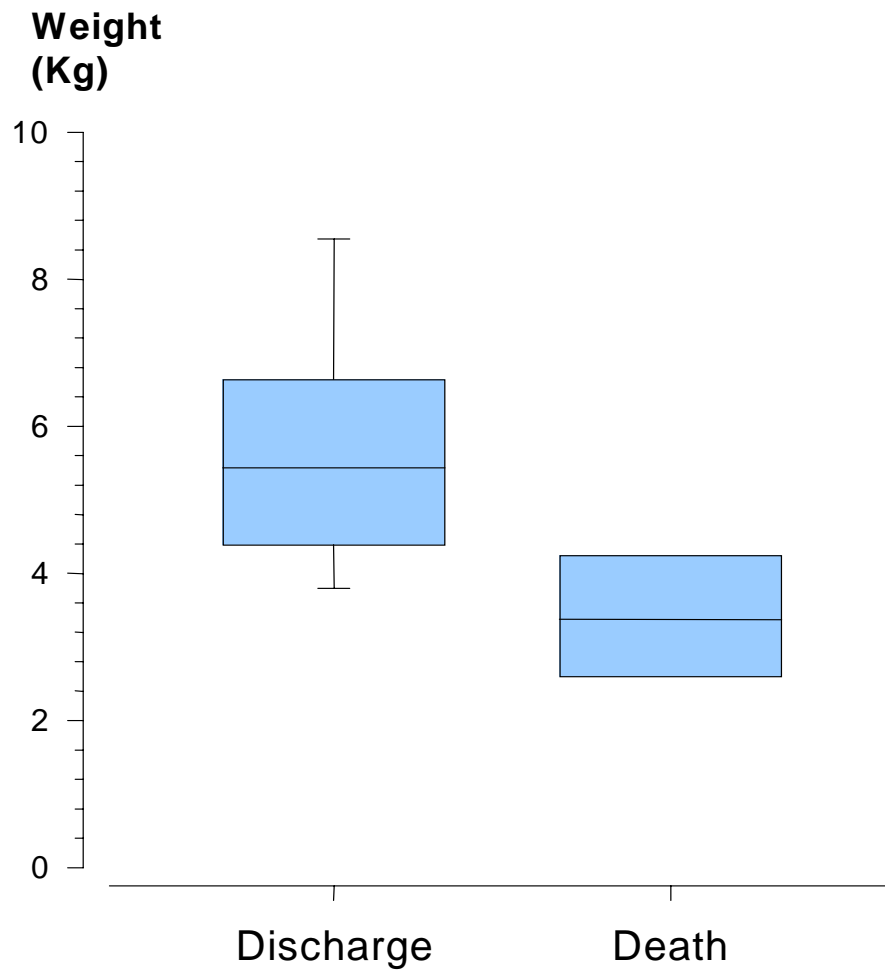
Figure 3

**LN[Lactate]  
(mmol/L)**

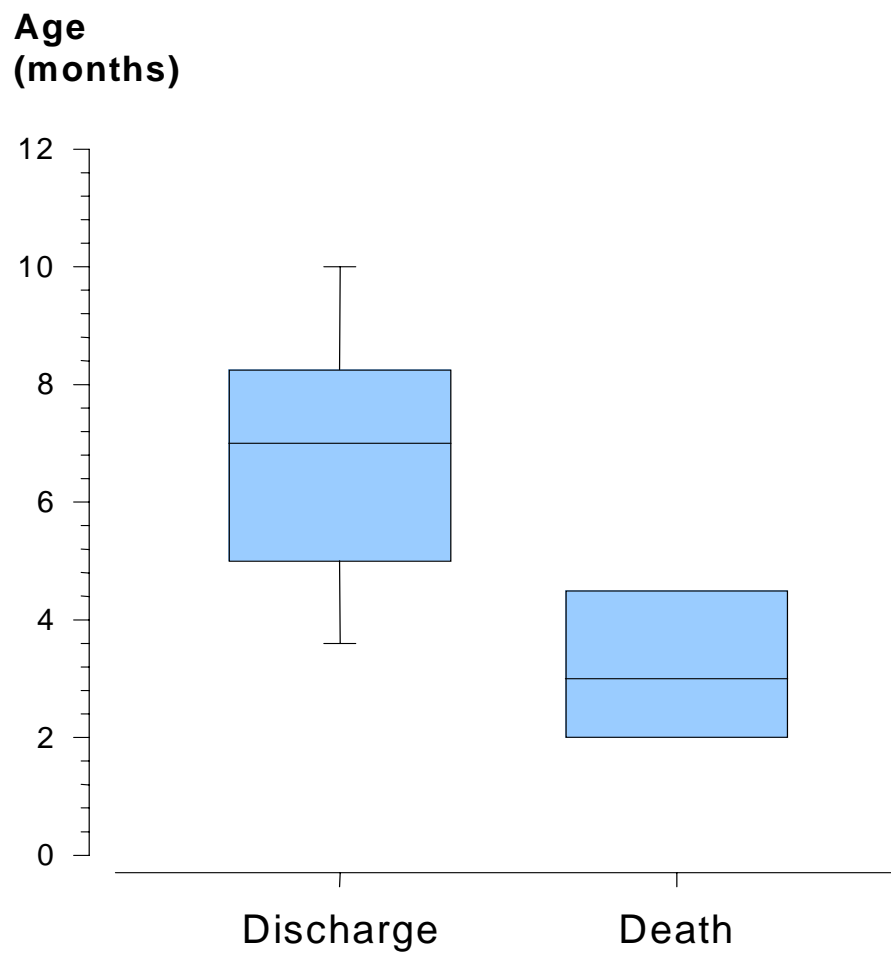


**Figure 4**





**Figure 5**



**Figure 6**

## References

1. Castaneda AR, Mayer JE, Jonas RA, et al. The neonatal with critical congenital heart disease: repair – a surgical challenge. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989;98:869-75.
2. Hoffman JI, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(12):1890-900.
3. Chang AC, Hanley FL, Wernovsky G, Wessel DL: Pediatric Cardiac Intensive Care. Williams & Wilkins 1998, pg 151-162.
4. Rabinovitch M, Herrera-Deleon V, Castaneda AR, et al. Growth and development of the pulmonary vascular bed in patients with tetralogy of Fallot, with or without pulmonary atresia. *Circulation* 1981;64:1234-49.
5. Kirklin JW, Donald DE, Harshbarger HG, et al. Studies in extracorporeal circulation. I. Applicability of Gibbon-type pump-oxygenator to human intracardiac surgery: 40 cases. *Ann Thorac Surg* 1956;144:2-8.
6. Wan S, Le Clerc JL, Vincent JL. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass: mechanisms involved and possible therapeutic strategies. *Chest* 1997; 112:676-92.
7. Royston D. Systemic inflammatory responses to surgery with cardiopulmonary bypass: pathophysiological, therapeutic, and pharmacological considerations. *Anesth Analg* 1997;85:766-82.
8. Mojcik CF, Levy JH. Aprotinin and the systemic inflammatory response after cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2001;71:745-54.

9. Hall RI, Smith MS, Rucker G. The systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass: pathophysiological, therapeutic, and pharmacological considerations. *Anesth Analg* 1997;85:766-82
10. Lotan D, Zilberman D, Dagan O, et al. Beta-chemokine secretion patterns in relation to clinical course and outcome in children after cardiopulmonary bypass: continuing the search to abrogate systemic inflammatory response. *Ann Thorac Surg* 2001;71:233-7.
11. Grünenfelder J, Zünd G, Schoeberlein A, et al. Expression of adhesion molecules and cytokines after coronary artery bypass grafting during normothermic and hypothermic cardiac arrest. *Eur J Cardio-thorac Surg* 2000;17:723-28.
12. Downing SW, Edmunds LH. Release of vasoactive substances during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1992;54:1236-43.
13. Kongsgaard UE, Smith-Erichsen N, Geiran O, Amundsen E, Mollnes TE, Garred P. Different activation patterns in the plasma-kallikrein-kinin and complement systems during coronary bypass surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 1989;33:343-7.
14. Elliot MJ, Finn AHR. Interaction between neutrophils and endothelium. *Ann Thorac Surg* 1993;56:1503-8.
15. Seghaye MC, Duchateau J, Grabitz RG, et al. Complement activation during cardiopulmonary bypass in infants and children. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;106:6: 978-87.
16. Jagers JJ, Neal MC, Smith PK, et al. Infant cardiopulmonary bypass: a procoagulant state. *Ann Thorac Surg* 1999;68:513-20.
17. Johnson D, Thomson D, Hurst T, et al. Neutrophil – mediated acute lung injury after extracorporeal perfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;107:5:1193-1202.

18. Hashimoto K, Miyamoto H, Suzuki K, et al. Evidence of organ damage after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;104:666-73.
19. Misawa Y, Kawahito K, Konishi H, Fuse K. Cytokine mediated endothelial activations during and after normothermic cardiopulmonary bypass: heparin-bonded versus non-heparin bonded circuits. *ASAIO Journal* 2000;46:740-43.
20. Levy JH, Kelly AB. Inflammation and cardiopulmonary bypass. *Can J Anaesth* 1993;40:11:1009-15.
21. Butler J, Chong GL, Baigrie RJ et al. Cytokine responses to cardiopulmonary bypass with membrane and bubble oxygenation . *Ann Thorac Surg* 1992;53:833-8.
22. Hayashi Y, Sawa Y, Nishimura M, et al. P-selectin participates in cardiopulmonary bypass – induced inflammatory response in association with nitric oxide and peroxynitrite production. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;120:558-65.
23. Morris K, Beghetti M, Petros A, Adatia I, Bohn D. Comparison of hyperventilation and inhaled nitric oxide for pulmonary hypertension after repair of congenital heart disease. *Crit Care Med* 2000;28:2974-78.
24. Adamik B, Kielb JB, Golebiowska B, et al. Effect of sepsis and cardiac surgery with cardiopulmonary bypass on plasma level of nitric oxide metabolites, neopterin, and procalcitonin: correlation with mortality and postoperative complications. *Intensive Care Med* 2000;26:1259-67.
25. Batlouni M. Endotelinas e outros fatores vasoconstritores derivados do endotélio. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo* 1996;6(2):138-45.
26. Komai H, Adatia IT, Elliot MJ, et al. Increased plasma levels of endothelin-1 after cardiopulmonary bypass in patients with pulmonary hypertension and congenital heart disease. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;106:473-8.

27. Adatia I, Haworth SG. Circulating endothelin in children with congenital heart disease. *Br Heart J* 1993;69:233-36.
28. Carreaux JP, Roux S, Siaghy M, et al. Acute pulmonary hypertension after cardiopulmonary bypass in pig: the role of endogenous endothelin. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999;15:346-52.
29. Fortenberry JD, Huber AR, Owens ML. Inotropes inhibit endothelial cell surface adhesion molecules induced by interleukin-1b. *Crit Care Med* 1997;25:303-8.
30. van Deuren M, van der Meer JWM. Hemofiltration in septic patients is not able to alter the plasma concentration of cytokines therapeutically. *Intensive Care Med* 2000;26:1176-78.
31. Speziale G, Ferroni P, Ruvolo G, et al. Effect of normothermic versus hypothermic cardiopulmonary bypass on cytokine production and platelet function. *J Cardiovasc Surg* 2000;41:819-27.
32. Wan S, Yim APC. Cytokines in myocardial injury: impact on cardiac surgical approach. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999;16(suppl 1):S107-111.
33. Yamada H, Kudoh I, Toyoshima M, et al. Heparin-coated circuits reduce the formation of TNF during cardiopulmonary bypass. *Acta Anaesthesiol Scand* 1996;40:311-17.
34. Ozawa T, Yoshihara K, Koyama N, et al. Clinical efficacy of heparin-bonded bypass circuits related to cytokine responses in children. *Ann Thorac Surg* 2000;69:584-90.
35. Frerking B, Philip I, Dehoux M, et al. Circulating cytokines in patients undergoing normothermic cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;108:4:636-41.

36. Duval ELIM, Kavelaars A, Veenhuizen L, et al. Pro- and anti-inflammatory cytokine patterns during and after cardiac surgery in young children. *Eur J Pediatr* 1999;158:387-93.
37. Habbal MHE, Carter H, Smith LJ, Elliot MJ, Strobel S. Neutrophyl activation in paediatric extracorporeal circuits: effect of circulation and temperature variation. *Cardiovasc Res* 1995;29(1):102-7.
38. Cremer J, Martin M, Redl H, et al. Systemic inflammatory response syndrome after cardiac operations. *Ann Thorac Surg* 1996;61:1714-20.
39. Chew MS, Brandslund I, Brix-Christensen V, et al. Tissue injury and the inflammatory response to pediatric cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology* 2001;94:745-53.
40. Wang MJ, Chiu IS, Hsu CH, et al. Efficacy of ultrafiltration in removing inflammatory mediators during pediatric cardiac operations. *Ann Thorac Surg* 1996;61:651-6.
41. Kotani N, Hashimoto H, Sessler DI, et al. Cardiopulmonary bypass produces greater pulmonary than systemic proinflammatory cytoquines. *Anest Analg* 2000;90:1039-45.
42. Bronicki RA, Backer CL, Baden HP, et al. Dexamethasone reduces the inflammatory response to cardiopulmonary bypass in children. *Ann Thorac Surg* 2000;69:1490-5.
43. Massoudy P, Zahler S, Tassani P, et al. Reduction of pro-inflammatory cytokine levels and cellular adhesion in CABG procedures with separated pulmonary and systemic extracorporeal circulation without na oxygenator. *Eur J Cardiothorac Surg* 2000;17:729-36.

44. Massoudy P, Zahler S, Becker BF, et al. Evidence for inflammatory responses of the lungs during coronary artery bypass grafting with cardiopulmonary bypass. *Chest* 2001;119:31-6.
45. Defraigne JO, Pincemail J, Larbuisson R, et al. Cytokine release and neutrophil activation are not prevented by heparin-coated circuits and aprotinin administration. *Ann Thorac Surg* 2000;69:1084-91.
46. Casey WF, Hauser GJ, Hannallah RS, et al. Circulating endotoxin and tumor necrosis factor during pediatric cardiac surgery. *Crit Care Med* 1992;20(8):1090-95.
47. Wan S, DeSmet JM, Barvais L, et al. Myocardium is a major source of proinflammatory cytokines in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;112:806-11.
48. Kawamura T, Wakusana R, Inada K. Interleukin – 10 and Interleukin – 1 receptor antagonists increase during cardiac surgery. *Can J Anaesth* 1997;44(1):38-42
49. Tárnok A, Hambsch J, Schneider P. Cardiopulmonary bypass-induced increase of serum interleukin-10 levels in children. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998;115:2:475-77.
50. Wan S, LeClerc JL, Vincent JL. Cytokine responses to cardiopulmonary bypass: lessons learned from cardiac transplantation. *Ann Thorac Surg* 1997; 63:269-76.
51. Seghaye MC, Duchateau J, Grabitz RG, et al. Influence of low-dose aprotinin on the inflammatory reaction due to cardiopulmonary bypass in children. *Ann Thorac Surg* 1996;61:1205-11.



52. Tárnok A, Hamsch J, Emmrich F, et al. Complement activation, cytokines, and adhesion molecules in children undergoing cardiac surgery with or without cardiopulmonary bypass. *Pediatr Cardiol* 1999;20:113-25.
53. Dreyer WJ, Phillips SC, Lindsey ML, et al. Interleukin 6 induction in the canine myocardium after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;120:256-63.
54. Corbi P, Rahmati M, Delwail A, et al. Circulating soluble gp130, soluble IL-6R, and IL-6 in patients undergoing cardiac surgery, with or without extracorporeal circulation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2000;18:98-103.
55. Hauser GJ, Ari JB, Colvin MP, et al. Interleukin-6 levels in serum and lung lavage fluid of children undergoing open heart surgery correlate with postoperative morbidity. *Intensive Care Med* 1998;24:481-86.
56. Ashraf S, Bhattacharya K, Tian Y, et al. Cytokine and S100B levels in paediatric patients undergoing corrective cardiac surgery with or without total circulatory arrest. *Eur J Cardio-thorac Surg* 1999;16:32-37.
57. Millar AB, Armstrong L, Linden J, et al. Cytokine production and hemofiltration in children undergoing cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993;56:1499-502.
58. 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;40:11;1016-21.
59. Ashraf SS, Tian Y, Zacharrias S, et al. Effects of cardiopulmonary bypass on neonatal and paediatric inflammatory profiles. *Eur J Cardiothorac Surg* 1997;12:862-8.

60. Borowiec JW, Hagman L, Totterman TH, et al. Circulating cytokines and granulocyte-derived enzymes during complex heart surgery. *Scand J Thor Cardiovasc Surg* 1995;29:167-74.
61. Hennein HA, Ebba H, Rodriguez JL, et al. Relationship of proinflammatory cytokines to myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 108:626-35.
62. Finkel MS, Hoffman RA, Shen L, et al. Interleukin-6 (IL-6) as a mediator of stunned myocardium. *Am J Cardiol* 1993;71:1231-2.
63. Kawamura T, Inada K, Okada H, et al. Methylprednisolone inhibits increase of interleukin 8 and 6 during open heart surgery. *Can J Anaesth* 1995;45:5:399-403.
64. Inaba H, Kochi A, Yorozu S. Suppression by methylprednisolone of augmented plasma endotoxin-like activity and interleukin-6 during cardiopulmonary bypass. *Br J Anaesth* 72;348-50.
65. Teoh KHT, Bradley CA, Gauldie J, Burrows H. Steroid inhibition of cytokine-mediated vasodilation after warm heart surgery. *Circulation* 1995;92[suppl II]:II-347-53.
66. Engelman RM, Rousou JA, Flack III JE, et al. Influence of steroids on complement and cytokine generation after cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1995;60:801-4.
67. Finn A, Naik S, Klein N, et al. Interleukin-8 release and neutrophil degranulation after pediatric cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;105:2:234-41.
68. Kalfin RE, Engelman RM, Rousou JA, et al. Induction of interleukin-8 expression during cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1993;88(5):II-401- II-406.

69. Jorens PG, Jongh RD, Backer WD, et al. Interleukin-8 production in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:890-5.
70. Marty C, Misset B, Tamion F, et al. Circulating interleukin-8 concentrations in patients with multiple organ failure of septic and nonseptic origin. *Crit Care Med* 1994;22:673-79.
71. Burns SA, Newburger JW, Xiao M, et al. Induction of interleukin-8 messenger RNA in heart and skeletal muscle during pediatric cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1995;92[suppl II]:II-315-21.
72. Grossi EA, Kallembach K, Chan S, et al. Impact of heparin bonding on Pediatric Cardiopulmonary bypass: a prospective randomized study. *Ann Thorac Surg* 2000;70:191-6.
73. Marie C, Muret J, Fitting C, et al. Reduced ex vivo interleukin – 8 production by neutrophils in septic and nonseptic systemic inflammatory response syndrome. *Blood* 1998;91(9):3439-46.
74. Gilliland HE, Armstrong MA, McMurray TJ. The inflammatory response to pediatric cardiac surgery: correlation of granulocyte adhesion molecule expression with postoperative oxygenation. *Anesth Analg* 1999;89:1188-91.
75. Gormley SMC, McBride WT, Armstrong MA, et al. Plasma and urinary cytokine homeostasis and renal dysfunction during cardiac surgery. *Anesthesiology* 2000;93:1210-6.
76. Töns M, Mihaljevic T, von Segesser LK, et al. Acute lung injury during cardiopulmonary bypass: are the neutrophils responsible? *Chest* 1995;108:1551-6.
77. Moat NE, Rebeck N, Shore DF, et al. Humoral and cellular activation in a simulated extracorporeal circuit. *Ann Thorac Surg* 1993;56:1509-14.

78. Seghaye MC, Duchateau J, Bruniaux J, et al. Interleukin-10 release related to cardiopulmonary bypass in infants undergoing cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;111:545-53.
79. Journais D, Pouard P, Greeley WJ et al. Hemofiltration during cardiopulmonary bypass in pediatric cardiac surgery. *Anesthesiology* 1994;81:5:1181-89.
80. Hunsche A, Botta A, Dalle Mulle L, Nogueira A, Molossi S. ICAM-1 and VCAM-1 levels are increased in infants with congenital heart defects and vary after CPB. *Pediatr Crit Care Med* 2002; no prelo
81. Dalle Mulle L, Botta A, Nogueira A, Delatorre N, Molossi S. Endothelin-1 levels positively correlates with outcome in infants undergoing open heart surgery. *Cardiol Young* 2001;11(suppl 1):84
82. Czerny M, Baumer H, Kilo J, et al. Inflammatory response and myocardial injury following coronary artery bypass grafting with or without cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardio-thorac Surg* 2000;17:737-42.
83. Dalle Mulle L, Ricachinewsky C, Santos C, et al: Serum lactate positively correlates with outcome in pediatric heart surgery. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31(5-Suppl C):342C
84. Hatherill M, McIntyre AG, Wattie M, et al: Early hyperlactataemia in critically ill children. *Intensive Care Med* 2000; 26(3):314-318
85. Carvalho MV, Maluf MA, Catani R, et al. Cytokines and pediatric open heart surgery with cardiopulmonary bypass. *Cardiol Young* 2001;11(1):36-43.
86. Zhu L, Wigle D, Hinek A, et al. The endogenous vascular elastase that governs development and progression of monocroteline-induced pulmonary hypertension in

- rats is a novel enzyme related to the serine proteinase adipsin. *J Clin Invest* 1994;94(3):919-20.
87. Kawamura T, Inada K, Nara N, et al. Influence of methylprednisolone on cytokine balance during cardiac surgery. *Crit Care Med* 1999;27:3:545-48.
88. Dinarello CA, Gelfand JA, Wolff SM. Anticytokine strategies in the treatment of the systemic inflammatory response syndrome. *JAMA* 1993;269:14:1829-35.
89. Tayama E, Hayashida N, Fukunaga S, et al. High dose cimetidine reduces pro-inflammatory reaction after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2001;72:1945-9.
90. Andreasson S, Gothberg S, Berggren H, et al. Hemofiltration modifies complement activation after extracorporeal circulation in infants. *Ann Thorac Surg* 1993;56:1515-7.
91. Journois D, Pouard P, Rolland B, Lagarde M. Ultrafiltration allows to reduce cytokine plasma concentrations during pediatric cardiopulmonary bypass. *Contrib Nephrol* 1995;116:86-8.
92. Elliot MJ. Ultrafiltration and modified ultrafiltration in pediatric open heart operations. *Ann Thorac Surg* 1993;56:1518-22.
93. Heidemann SM, Ofenstein JP, Sarnaik AP. Efficacy of continuous arteriovenous hemofiltration in endotoxic shock. *Circulatory shock* 1994;44:183-87.
94. Bokesch PM, Kapural MB, Mossad EB, et al. Do peritoneal catheters remove pro-inflammatory cytokines after cardiopulmonary bypass in neonates? *Ann Thorac Surg* 2000;70:639-43.
95. Gillinov AM, Redmond JM, Zehr KJ, et al. Inhibition of neutrophil adhesion during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1994;57:126-33.

96. Kaul TK, Fields BL. Leucocyte activation during cardiopulmonary bypass: Limitations of the inhibitory mechanisms and strategies. *J Cardiovasc Surg* 2000;41:849-62.
97. Sawa Y, Shimazaki Y, Kadoba K, et al. Attenuation of cardiopulmonary bypass-derived inflammatory reactions reduces myocardial reperfusion injury in cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;111:29-35.