

SÉRGIO BERNARDO TENÓRIO

**ATIVÇÃO DO SISTEMA COMPLEMENTO CAUSADA  
PELA CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA EM  
CRIANÇAS SUBMETIDAS À CIRURGIA  
CARDÍACA**

Tese de Mestrado apresentada à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná.

CURITIBA  
1993

---

**SÉRGIO BERNARDO TENÓRIO**

**ATIVAÇÃO DO SISTEMA COMPLEMENTO CAUSADA PELA  
CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA EM CIRURGIA CARDÍACA  
EM CRIANÇAS**

Tese apresentada ao Curso de Pós Graduação em Cirurgia  
do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal  
do Paraná, como requisito parcial para obtenção do grau  
de Mestre

**CURITIBA  
1993**

---

Orientadora:  
Profa. Dra. Iara José Taborda de Messias

---

## FICHA BIBLIOGRÁFICA

TENÓRIO , SÉRGIO BERNARDO

Ativação do Sistema Complemento causada pela Circulação Extracorpórea em Cirurgia Cardíaca em Crianças, / S.B.T. Curitiba, 1993. nn p.

Tese (Mestrado). Universidade Federal do Paraná

Área de Concentração: Cirurgia

Palavras chave: Circulação Extracorpórea, Cirurgia Cardíaca, Criança, Oxigenador de Bolhas, Sistema Complemento,

---

À Marcia, Marília, Renata e Paula, esposa e filhas, estas  
mulheres maravilhosas que alegram minha vida.

---

## AGRADECIMENTOS

- \* À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Iara José Taborda de Messias pela orientação e revisão deste trabalho.
- \* Ao Prof Dr Iseu de Santo Elias Affonso da Costa pelo estímulo e sugestões úteis
- \* Ao Dr Carlos Henrique Jacob pela sua colaboração, enquanto chefe do Serviço de Anestesia do Hospital de Clínicas da UFPR
- \* Ao Dr Fábio Said Sallum e Dr Wanderley Saviolo Ferreira pela colaboração prestada pelo Serviço de Cirurgia Cardíaca do Hospital Infantil Pequeno Príncipe
- \* À Dra Kátia Marina S. Floriano pela ajuda na coleta das amostras.
- \* Aos demais colegas do Serviço de Anestesiologia Pediátrica do Hospital Infantil Pequeno Príncipe pela colaboração prestada durante a realização deste trabalho.
- \* À Mari e demais funcionários do centro cirúrgico do Hospital Pequeno Príncipe pela colaboração prestada durante a coleta das amostras
- \* Aos anestesiológicos do Hospital Angelina Caron e Santa Casa de Misericórdia que me auxiliaram na coleta de amostras dos pacientes adultos. Embora estas amostras não tenham sido usadas no trabalho, agradeço-os pela gentileza e boa vontade demonstradas.
- \* Ao bioquímico Renato Mitsumori Nisihara pela sua eficiência e colaboração na realização dos exames de laboratório.
- \* Ao Prof Dr Osvaldo Malafaia e demais professores do Mestrado em Cirurgia, pela oportunidade de realizar este trabalho e pelo aprendizado que me propiciaram.
- \* Ao Dr Antonio Leite Oliva Filho pela colaboração na orientação final da análise estatística e trabalho de impressão.
- \* Ao diretor do Hospital de Clínicas, Dr Osmar Martins, pela colaboração na aquisição dos materiais de laboratório necessários à este trabalho.
- \* Às bibliotecárias e demais funcionários da biblioteca da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Paraná pela valiosa colaboração no levantamento bibliográfico.
- \* À Dra Sandra Wanderley por ter me substituído várias vezes nas minhas atividades como anestesista, tornando possível o cumprimento dos créditos do mestrado.
- \* A todas as pessoas que direta ou indiretamente auxiliaram neste trabalho.

---

## SUMARIO

<b>LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS</b>	<b>vii</b>
<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b>	<b>ix</b>
<b>RESUMO</b>	<b>x</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>xi</b>
<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>OBJETIVO</b>	<b>10</b>
<b>CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>12</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>18</b>
<b>DISCUSSÃO</b>	<b>22</b>
<b>CONCLUSÕES</b>	<b>26</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>28</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>34</b>

---

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

<b>ACD</b>	- <b>Ácido Citrato Dextrose</b>
<b>C</b>	- <b>Complemento</b>
<b>CEC</b>	- <b>Circulação Extracorpórea</b>
<b>CH50</b>	- <b>Unidade Hemolítica 50%</b>
<b>CLM</b>	- <b>Complexo Lítico de Membrana</b>
<b>CPD</b>	- <b>Citrato Fosfato Dextrose</b>
<b>CR</b>	- <b>Receptor de Complemento</b>
<b>EA</b>	- <b>Complexo Antígeno-Anticorpo</b>
<b>EDTA</b>	- <b>Ácido Etilenodiaminotetraacético</b>
<b>IG</b>	- <b>Imunoglobulinas</b>
<b>INA</b>	- <b>Inativador</b>
<b>INH</b>	- <b>Inibidor</b>
<b>R</b>	- <b>Receptor</b>
<b>SC</b>	- <b>Sistema Complemento</b>

---

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>1 Ativação em Cascata do Sistema de Complemento</b>	<b>4</b>
--	----------

---

## LISTA DE TABELAS

<b>1 - Proteínas do Sistema Complemento com Ação Reguladora e Receptores</b>	<b>4</b>
<b>2 - Operações Realizadas no Grupo 1 (com Auxílio de Circulação Extracorpórea)</b>	<b>13</b>
<b>3 - Operações Realizadas no Grupo 2 (sem Auxílio de CEC)</b>	<b>14</b>
<b>4 - Material Utilizado nos Oxigenadores de Bolhas Infantil</b>	<b>15</b>
<b>5 - Níveis de C3 e de seu Fragmento C3d no Grupo 1</b>	<b>19</b>
<b>6 - Níveis de C3 e do Fragmento C3d no Grupo 2</b>	<b>20</b>
<b>7 - Comparação entre os Valores Médios de C3 da 1ª e 2ª Amostras nos Grupos 1 e 2</b>	<b>20</b>
<b>8 - Comparação entre os Valores Médios de C3d da 1ª e 2ª Amostras nos Grupos 1 e 2</b>	<b>21</b>

---

## RESUMO

Com o objetivo de avaliar a ativação do sistema complemento em crianças submetidas à operações do coração com Circulação Extracorpórea (CEC), com oxigenadores de bolhas, foram estudadas 19 crianças divididas em dois grupos: grupo 1 constituído por 10 crianças submetidas a operações cardíacas com CEC, e grupo 2 constituído por 9 crianças submetidas a operações cardíacas sem CEC. Foram excluídas as crianças sob corticoterapia, as portadoras de doenças autoimunes ou de infecção. A CEC foi realizada com oxigenadores de bolhas, infantil, produzidos no Brasil, com reservatórios de 600ml. Foram analisadas duas amostras de sangue de cada paciente: uma colhida no início e outra no final da operação. Todas as amostras foram armazenadas a -70°C, para posterior análise. A ativação do complemento foi avaliada pela dosagem sanguínea dos níveis de C3 e de seu fragmento C3d. Os níveis de C3 foram expressos em mg/dl e os níveis de C3d em percentagem de valores controle de soros de indivíduos normais. Os resultados do grupo 1 de C3 e C3d da primeira e segunda amostras foram respectivamente:  $84,8 \pm 14,7$  e  $34,2 \pm 8,2$  ( $p = 0,0076$ ) e  $129 \pm 28,5$  e  $338 \pm 67,5$  ( $p = 0,0056$ ). Para o grupo 2 os resultados de C3 e C3d para a primeira e segunda amostras foram respectivamente:  $86 \pm 15,1$  e  $93 \pm 21,3$  ( $p = 0,1388$  - NS);  $91 \pm 11,9$  e  $85,9 \pm 13,4$  ( $p = 0,1096$  - NS). Estes resultados mostram ter havido consumo do complemento no grupo 1 e que este consumo foi devido à ativação. Nas crianças submetidas à operações sem auxílio da CEC não houve consumo ou ativação do sistema complemento.

---

## ABSTRACT

Complement activation was studied in 10 children undergoing open cardiac operation (group 1) and in 9 children undergoing closed operation (group 2). Children with infectious disease and under corticotherapy as well as those with immunological disease were excluded. Cardiopulmonary bypass was performed with bubble oxygenators made in Brazil, primed with blood and crystalloid. Blood samples were drawn at the beginning of the operation and approximately 15 minutes before skin closure. Plasma concentration of the third component factor (C3) and its split product C3d was measured in all patients. Plasma concentration of C3 decreased significantly in group 1 ( $84.8 \pm 14.7$  mg/dl and  $34.2 \pm 8.2$  mg/dl;  $p=0.0076$ ) and remained unchanged in group 2 ( $86 \pm 15.1$  mg/dl and  $93 \pm 21.3$  mg/dl;  $p=0.1399$ -NS). Plasma concentration of C3d rose significantly in group 1 ( $129 \pm 28.5$  and  $338 \pm 67.5$ ) ( $p=0.0056$ ) but remained unchanged in group 2 ( $91 \pm 11.9$  e  $85.9 \pm 13.4$ ;  $p=0.1096$ ). C3d was expressed as percentage of a normal control value.

We concluded that the third component of the complement system C3 was consumed during the cardiopulmonary bypass and that this consumption was due to activation.

---

## INTRODUÇÃO

## 1.1 A Circulação Extracorpórea (CEC)

O conceito de que o sangue poderia circular e ser oxigenado fora do organismo foi estabelecido por Le Gallois em 1812, mas foi Gibbon o primeiro a aplicá-lo na clínica. Seus experimentos iniciaram-se em 1937 em animais e culminaram com a realização, no ano de 1953, da primeira operação intra-cardíaca com auxílio da CEC em um ser humano<sup>46,64</sup>.

A CEC é um procedimento que visa substituir temporariamente a função do coração e dos pulmões permitindo intervenções cirúrgicas em seu interior e no interior dos grandes vasos. Em conceituação simplificada, a CEC funciona da seguinte forma: o sangue venoso que retorna ao coração é drenado por sifonagem para um reservatório venoso onde é oxigenado e reinfundido no organismo por uma artéria de grosso diâmetro, geralmente a aorta ou artéria femoral<sup>43,64</sup>.

O equipamento da CEC é composto do **oxigenador**, substituto da função de troca gasosa do pulmão, e de uma bomba constituída por um rolete que, ao comprimir um tubo maleável de plástico, impulsiona o sangue arterializado até o organismo. A oxigenação ocorre pelo contato direto do sangue com o oxigênio ou pela difusão do oxigênio através de uma membrana semi-permeável. O gás carbônico é eliminado pelo oxigenador por difusão que é facilitada pelo fluxo de oxigênio<sup>64</sup>.

O circuito da CEC é preenchido com soluções cristalóides, sangue ou outros colóides e drogas que irão se misturar ao sangue drenado do paciente<sup>65</sup>. Este volume inicial é comumente designado pelo termo "perfusato". O oxigenador contém um sistema de trocas térmicas que permite regular a temperatura do sangue<sup>43,64</sup>.

### 1.1.1 Oxigenador

Os dois principais tipos de oxigenadores disponíveis hoje são o oxigenador de bolhas e o oxigenador de membrana.

#### a- Oxigenador de bolhas

Nos oxigenadores de bolhas o sangue drenado do paciente por sifonagem e aspirado do campo operatório, é oxigenado pelo contacto direto com o oxigênio. Este tipo de oxigenador requer, para uma eficaz saturação da hemoglobina, uma grande superfície de contacto do sangue com o oxigênio. Esta superfície maior é conseguida pela conversão do oxigênio em bolhas. Quanto menores as bolhas maior a superfície de contacto com o sangue, mas por outro lado, maior quantidade de espuma é formada. Esta espuma deve ser retirada antes que o sangue chegue ao paciente.

O sangue, uma vez oxigenado, passa por um desborbulhador que é composto de uma esponja de nylon revestida de poliuretano que retira todas as bolhas existentes. O sangue desborbulhado cai no reservatório arterial e é injetado no organismo. Pequenas bolhas que eventualmente não foram captadas na esponja ficam retidas em filtros existentes nos tubos por onde é transportado o sangue arterial. O volume do perfusato varia entre 600 a 3000 ml<sup>8,43,64</sup>.

#### b-Oxigenador de membrana

O oxigenador de membrana é essencialmente um pulmão extracorpóreo no qual a troca gasosa ocorre através de uma membrana sintética que separa o sangue do gás. Esta membrana faz o papel da membrana alvéolo-capilar<sup>55</sup>.

## 1.2 Sistema Complemento

O sistema complemento (SC) é um importante mediador da defesa do organismo humano constituindo-se num dos principais mecanismos inespecíficos da resposta imune.

A suspeita de sua existência data de 1893 quando Büchner observou que certos anti-soros desde que recém colhidos, eram capazes de destruir bactérias. Em 1894, Pfeiffer e Issaef inocularam vibrião colérico no peritônio de cobaias previamente imunizadas com o vibrião e verificaram que este se desintegrava<sup>68</sup>. No ano seguinte Bordet confirmou *in vitro* este fenômeno e mostrou ainda que, com o aquecimento do soro à 56°C por 30 minutos ele perdia esta capacidade. Bordet concluiu que o soro continha duas substâncias: uma específica e termoestável (o anticorpo) e outra inespecífica e termolábil (o sistema complemento)<sup>68</sup>.

Graças a este trabalho Bordet foi agraciado em 1920 com o prêmio Nobel<sup>14</sup>.

Hoje sabe-se que o sistema complemento é composto de mais de 20 proteínas que normalmente encontram-se inativas no soro, mas que podem ser ativadas seqüencialmente gerando como produto final um complexo protéico com capacidade lítica das membranas celulares sobre as quais se depositou, além de uma série de outros produtos intermediários com importantes atividades inflamatórias como anafilaxia, quimiotaxia e opsonização<sup>10,22,68</sup>.

Embora a ativação do complemento seja um importante mecanismo na manutenção da homeostase do organismo, uma ativação excessiva pode ser extremamente deletéria como a que pode ocorrer por exemplo, no choque endotóxico<sup>59</sup>, na síndrome da angústia respiratória do adulto<sup>21</sup>, nas várias modalidades de circulação extra-corpórea utilizadas principalmente em cirurgia cardíaca<sup>40</sup> e em hemodiálise<sup>20,37</sup>. A exposição do sangue às superfícies externas como as encontradas nos circuitos extracorpóreos na realidade ativa todos os sistemas humorais que funcionam em "cascata": inicia pela ativação do fator XII da coagulação que desencadeia a ativação do sistema cinina-bradicinina que por sua vez ativa o sistema fibrinolítico e a via alternativa do complemento<sup>74</sup>. É possível bloquear-se a ativação da coagulação pelo uso de anticoagulantes, mas não existe ainda meios confiáveis de bloquear as demais cascatas da ativação<sup>74</sup>.

### 1.2.1 Nomenclatura do Sistema Complemento<sup>32,68,73</sup>

As principais proteínas integrantes da via clássica do SC são designadas pela letra C, seguidas por identificação numérica de 1 a 9 (Ex C1, C3, etc). Os números indicam a ordem de descoberta das proteínas. Os componentes da via alternativa, exceto o C3, são designados com nomes convencionais ou símbolos diferentes (exemplo: fator B, fator D, Properdina). Os produtos resultantes da clivagem são designados por letras minúsculas seguidas da identificação da proteína ativada (ex: C3a, C4b). Se a proteólise resultar em fragmentos inativados é acrescida a letra i (ex: C3bi). A atividade enzimática de uma proteína ou complexo protéico é designada por uma barra horizontal sobre o número do componente (Ex- C $\bar{3}$ s) ou sobre os números dos vários componentes (ex: C $\bar{5}$ b $\bar{6}$ 7). Outras proteínas com ação reguladora de receptores celulares para fragmentos do complemento estão descritas na tabela 1.

**Tabela 1****Proteínas do sistema complemento com ação reguladora e receptores \***

Proteínas Reguladoras	Receptores
C1, INH, C4bp, H, I, P, C3a/C5a INA, S Proteína, CR1, CR2, DAF, MCP, HRF	C1qR, C3aR, C5aR, CR1, CR2, CR3, CR4, CR5

\*Abreviações aceitas: INH: inibitor; C4bp: C4 binding protein; INA: inativador; R: receptor; CR: complement receptor; DAF: decay accelerating factor; MCP: membrane cofactor protein; HRF: homologos restriction factor.

Adaptado de: VOLANAKIS J. E. Invited letter concerning: Complement activation caused by different oxygenators. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 98:292-295,1989,

**1.2.2 Vias de ativação do Sistema Complemento**

O contacto do sangue com qualquer agente estranho pode provocar a ativação do SC. A exemplo do que ocorre no sistema de coagulação esta ativação é feita em forma de cascata onde cada proteína ativada passa a agir como uma enzima e a proteína seguinte como um substrato, até se formar o produto final conhecido como complexo lítico de membrana que provocará a lise do agente agressor. Este complexo lítico pode ser formado por duas vias de ativação: a via clássica e a via alternativa (fig 1).

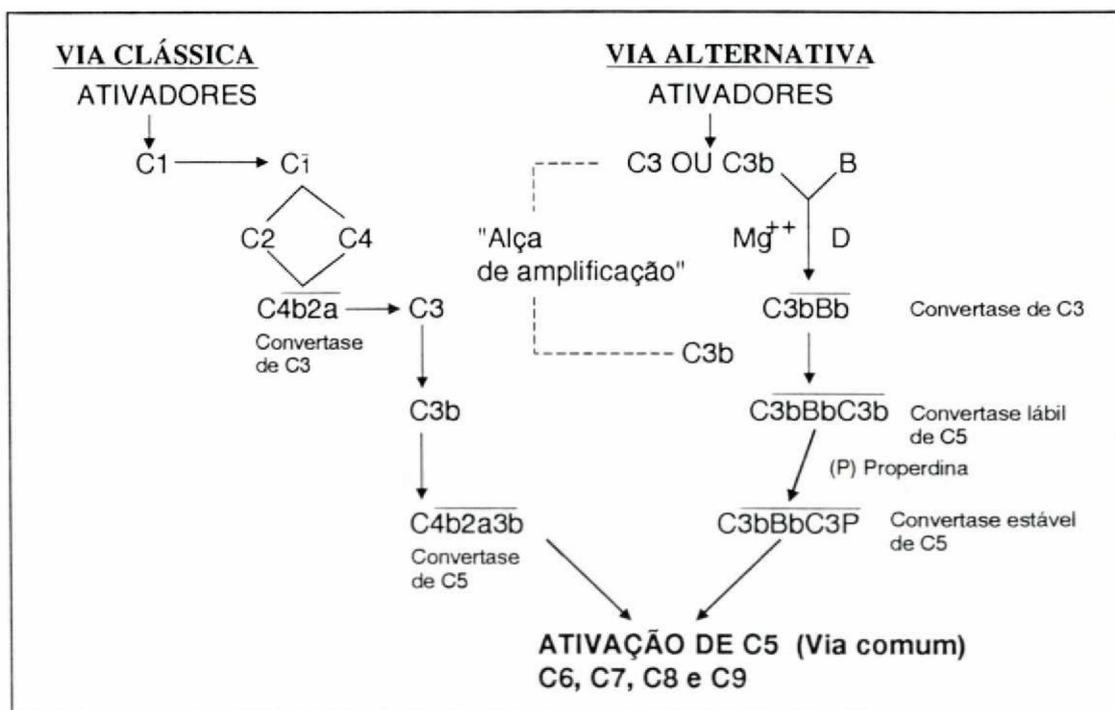


Fig 1 - Diagrama dos mecanismos de ativação "em cascata" do Sistema Complemento (Vias de ativação).

## I) Via clássica

Participam da ativação da via clássica os componentes C1, C2, C4, C3, C5, C6, C7, C8 e C9. Apenas as imunoglobulinas IG1, IG2, IG3 e IGM, na forma de complexo antígeno-anticorpo, são capazes de ativar a via clássica. Este complexo antígeno-anticorpo normalmente é designado pelas letras EA porque o primeiro antígeno utilizado foi o eritrócito<sup>32</sup>.

Esta ativação ocorre na seguinte seqüência:

a- O complexo antígeno-anticorpo ativa o componente C1 que é constituído por três subunidades C1q, C1r e C1s. A ativação de C1 inicia-se pela ligação de C1q à um sítio na porção Fc da imunoglobulina. C1 ativado (C1<sup>i</sup>) atua sobre C4 e C2 desdobrando o C4 em C4a e C4b e o C2 em C2a e C2b. O C4a e o C2b são liberados para a fase fluída enquanto que o C4b e o C2a ligam-se ao complexo EAC1 formando EAC1<sup>4b2a</sup>;

b- O complexo C1<sup>4b2a</sup>, agora designado por C3 convertase, adquire atividade enzimática sobre a molécula C3, clivando-a em C3a e C3b. Este último fragmento se liga ao complexo enzimático enquanto que o C3a é liberado para a fase fluída atuando como um dos mediadores da inflamação;

c- O complexo C1<sup>4b2a3b</sup>, agora designado C5 convertase, adquire atividade enzimática sobre C5, clivando-o em C5a e C5b que se liga através de polimerização à C6, C7, C8 e C9 formando o C5b-9 que é o complexo terminal lítico de membrana. C5a é liberado para a fase fluída desempenhando importantes funções biológicas. Esta via final é comum à ambas vias de ativação: a clássica e a alternativa.

## II. Via alternativa

Também conhecida como via da properdina é filogeneticamente mais antiga que a via clássica e está presente em todos os animais vertebrados. Sua ativação independe de C1, C4 e C2 e pode ser desencadeada por via não imunológica na ausência de complexo antígeno-anticorpo, pelo contacto com as superfícies ativadoras presentes em certas bactérias, parasitas e fungos, como polissacarídeos, endotoxinas e pelo contato do sangue com superfícies não endoteliais<sup>32,23</sup>.

O processo de ativação da via alternativa ocorre na seguinte seqüência<sup>32</sup>:

a- Em condições normais através da hidrólise espontânea de C3, há formação contínua de C3b, o qual na ausência do fator H é inativado (C3bi). Quando o C3b se liga a um ativador a capacidade de inativação do fator H diminui e então inicia-se a cascata de ativação pela via alternativa.

b- Moléculas de C3b que se tenham ligado covalentemente a superfícies ativadoras, se ligam ao fator B formando C3bB. Esta reação depende de íons Mg<sup>++</sup>.

c- O complexo C3bB sofre ação da enzima D que cliva o B em dois fragmentos: o Ba que é liberado para a fase fluída e o Bb continua ligado ao C3bB formando C3bBb.

d- C3bBb adquire atividade de C5 convertase após clivagem de moléculas adicionais de C3 e deposição de C3b em sítios adjacentes sobre o alvo ativador. A formação de C5 convertase pelas vias clássica (C1<sup>4b2a</sup>) e alternativa (C3bBb) de ativação dá origem a uma especificidade enzimática que é necessária para continuar a reação do complemento.

### III. Formação do complexo lítico de membrana.

A clivagem proteolítica de C5 libera o peptídeo C5a que possui atividade anafilática e quimiotática e o fragmento maior C5b, que inicia a formação do complexo lítico de membrana C5b-C9; C6 e C7 ligam-se a C5b formando um complexo trimolecular com regiões hidrofóbicas expostas que se inserem parcialmente na membrana da célula-alvo onde se encontra a C5 convertase. A ligação de C8 ao C5b-7 associado à membrana, bem como de múltiplas moléculas de C9, leva a uma maior inserção do complexo na membrana, pela qual podem passar água, sais e pequenas moléculas, ocorrendo dilatação da célula e lise osmótica<sup>59</sup>.

### IV. Regulação da ativação da cascata do Complemento

Para que a ativação do Complemento não destrua as células do próprio organismo é necessário mecanismos reguladores da ativação e da produção de produtos de clivagem com atividade biológica. Existem três mecanismos de regulação da ação do complemento: a) inativação espontânea de alguns produtos como o C5b, C4b, C3b e B; b) a inativação por degradação enzimática de componentes ativos; c) inativação por inibição estequiométrica que é a interação entre duas moléculas em proporções molares, sem quebra enzimática, mas com consumo do inibidor da reação. Uma série de proteínas plasmáticas participam desta regulação: a) fator inibidor de C1 (INH C1); b) fator H; c) fator I; d) Inativador de anafilatoxina; e) Proteína S; f) Proteína de associação a C4; g) SP 40,40; h) Properdina<sup>73</sup>.

#### 1.2.3 Atividade Biológica dos produtos gerados durante a ativação do Sistema Complemento.

Durante a ativação do Complemento são formados, além do complexo lítico de membrana C5b9, outros produtos com importantes funções na defesa do organismo:

##### a) C3a, C4a e C5a

São produtos formados e liberados para a fase fluída durante a ativação de C3, C4 e C5 respectivamente. São conhecidos como anafilatoxinas porque promovem a liberação de histamina dos mastócitos e basófilos e em conseqüências causam vasodilatação, aumento da permeabilidade capilar e contração do músculo liso. C3a e C5a parecem também capazes de exercer sua ação sem a mediação de mastócitos e basófilos. O C5a humano é capaz de desencadear resposta celular em granulócitos incluindo mastócitos, basófilos, eosinófilos e neutrófilos como também nos monócitos e macrófagos. Segundo conceitos atuais, o C5a funciona como potente mediador da inflamação aguda ao promover a adesão dos granulócitos ao endotélio capilar e estimular a quimiotaxia destas células que se acumulam no foco inflamatório. Uma vez no foco inflamatório o C5a provoca a liberação, pelos granulócitos, de enzimas lisossomais e a produção de radicais tóxicos de oxigênio. Quando ocorre formação desregulada de C5a as manifestações sistêmicas podem ser lesivas para os tecidos. O C5a exerce sua função ao se ligar em receptores específicos nos granulócitos. Uma vez ligado ao neutrófilo o C5a é internalizado e degradado em seus constituintes. A remoção do terminal carboxil arginina (C5a des arg) tira sua ação de anafilatoxina mas não a de quimiotaxia<sup>26,32,33,36,49</sup>.

##### c) C3b

O fragmento C3b, resultante da ativação de C3, tem a capacidade de mediar a aderência de partículas (exemplo: bactéria, complexo antígeno-anticorpo) aos

fagócitos através da ação em receptores específicos nestas células, facilitando a fagocitose. Este fenômeno é conhecido como opsonização<sup>10,23,32,68</sup>.

d) Ba

O fragmento Ba possui também atividade quimiotática sobre polimorfonucleares<sup>10,23,32,68</sup>.

e) C2b

O fragmento C2b produz cininas com capacidade de vasodilatação<sup>32</sup>.

f) C5b9

O complexo lítico de membrana C5b9, é o produto final da reação, o qual uma vez formado insere-se na membrana celular, mediando a lise osmótica<sup>10,23,32,68</sup>.

### 1.3 Alterações no Sistema Complemento causadas ou relacionadas com a CEC

A participação da CEC no aumento da morbidade e mortalidade nas cirurgias cardíacas é conhecida desde a primeira cirurgia com o coração aberto<sup>75</sup>. Gibbon, pouco tempo após ter introduzido a CEC, reconhecia que a insuficiência respiratória era a principal e mais grave alteração funcional do período pós-operatório<sup>24</sup>. Dodrill<sup>74</sup> na abertura de um dos primeiros congressos sobre a CEC afirmava: "É desencorajador realizar cirurgias com o coração aberto e ver um paciente evoluir em excelentes condições durante todo o procedimento por um dia ou dois e finalmente sucumbir à insuficiência pulmonar, enquanto o coração permanece forte até o final". Outros relatos deste época estimavam que 15 a 25% de todos os pacientes apresentavam após a CEC algum tipo de complicação pulmonar<sup>31,53</sup>.

Estas complicações caracterizavam-se por insuficiência respiratória progressiva, baixa complacência do pulmão, alterações nas provas de função pulmonar, hemorragia alveolar, hipoxemia e freqüentemente óbito. Não eram raras porém as disfunções renais, do sistema nervoso central e da coagulação. Este conjunto de disfunções foi definido por vários autores como "síndrome de pós-perfusão"<sup>1,2,6,38,45,47, 63,74</sup>.

As lesões visualizadas ao microscópio ótico e eletrônico eram semelhantes às encontradas nos pacientes submetidos ao choque prolongado<sup>56</sup>: ingurgitamento do leito vascular pulmonar, microatelectasias, edema e hemorragia intralveolar<sup>63</sup>, lesão e edema das células endoteliais, edema intersticial, acúmulo de leucócitos e seus produtos de degranulação no espaço intersticial, edema e rarefação do citoplasma dos pneumócitos tipo I e II e edema das mitocôndrias e retículo endoplasmático<sup>4</sup>. A gravidade das lesões correlacionava-se com o tempo de perfusão<sup>39,75</sup>.

Várias hipóteses foram sugeridas para explicar estes achados anátomo-clínicos: redução do surfactante<sup>48</sup>, presença na microcirculação pulmonar de microagregados de plaquetas e leucócitos<sup>70</sup>, isquemia do tecido pulmonar decorrente de hipotensão arterial e aumento da pressão capilar pulmonar<sup>4</sup>, liberação de substâncias vasoativas pelas células sanguíneas e plaquetas lesadas<sup>63</sup> e até a presença de algumas substâncias desconhecidas no sangue circulante com poder de agredir os pulmões<sup>56</sup>.

A participação do sistema complemento nas complicações ocorridas nos pacientes submetidos à cirurgia cardíaca com CEC só foi proposta no início da década de 70<sup>54</sup>. Com a metodologia disponível na época (avaliação funcional do SC pela dosagem do CH50) não foi possível determinar se havia ocorrido ativação ou simples desnaturação protéica. Estudos posteriores confirmaram a redução dos níveis de CH50<sup>28</sup>, demonstraram haver conversão de C3<sup>28,29</sup> e consumo de C3, C4 e do fator

---

B<sup>28,34</sup>. O achado de neutropenia e alteração na quimiotaxia e aderência dos polimorfonucleares foi adotado como prova indireta da presença de anafilatoxinas, como a C5a no plasma<sup>28</sup>.

Por falta de métodos laboratoriais capazes de detectar os fragmentos resultantes da ativação do complemento nenhum destes trabalhos pode comprovar a participação do complemento na síndrome de pós-perfusão. Isto só viria a acontecer após a introdução da técnica de radioimunoensaio, capaz de detectar no plasma as anafilatoxinas C3a e C5a. Com o auxílio deste método foi demonstrado que os níveis de C3a podem estar aumentados em até 5 vezes após a CEC<sup>17</sup>. Estes autores demonstraram também em estudo *in vitro* que a incubação do sangue com a esponja de náilon utilizada para o desborbulhamento nos oxigenadores de bolhas assim como a oxigenação do sangue pelo contacto direto como o oxigênio, também ativavam o complemento<sup>17</sup>.

A avaliação dos níveis de C3a após a CEC em 116 pacientes demonstrou haver correlação positiva com as complicações renais, cardíacas e pulmonares<sup>39</sup>. Os pesquisadores concluíram que o efeito lesivo tecidual relacionava-se, pelo menos em parte, com a ativação do complemento pelas superfícies não endoteliais encontradas pelo sangue e que entre os mecanismos da lesão estavam uma reação inflamatória global do organismo.

Um outro trabalho não conseguiu demonstrar ativação do SC após a CEC em uma análise de 10 pacientes submetidos à operação de revascularização do miocárdio. Demonstrou-se haver consumo do componente C3 e C4 e redução na função global do complemento mas não se conseguiu demonstrar a presença dos produtos da ativação como o C3d<sup>11</sup>. Baseados nestes dados os autores sugeriram que a redução de C3 e C4 foi devido à desnaturação protéica e não a sua ativação. Reforçaram esta hipótese pela observação de que a maioria dos pacientes relatados não apresentaram as complicações que seriam esperadas pela ativação do SC. Em outra investigação realizada em pacientes submetidos à operações intracardíacas foram determinados antes e após a CEC, os níveis séricos de imunoglobulinas e complemento, assim como a capacidade destas proteínas de defesa agirem como opsoninas facilitando a fagocitose pelos leucócitos polimorfonucleares. Após a CEC foi demonstrado consistente redução dos níveis séricos das proteínas e da capacidade de opsonização do plasma. Quando porém os dados foram corrigidos para a hemodiluição deixaram de existir diferenças entre a atividade de opsonização do plasma antes e após a CEC. Os autores concluíram que a CEC causa redução quantitativa mas não funcional dos níveis de C3 e imunoglobulinas<sup>67</sup>. Estes resultados não foram reproduzidos com técnicas de laboratório mais modernas<sup>5,41</sup>.

Mais recentemente foi detectado na membrana de eritrócitos e granulócitos e no plasma de 48 pacientes submetidos à operação cardíaca com CEC, o produto terminal da ativação do complemento C5b-9. Os autores propuseram a hipótese de que a deposição de C5b-9 sobre as hemácias e granulócitos durante a CEC poderia ser parcialmente responsável pela hemólise e pelo aumento da ativação dos granulócitos<sup>58</sup>.

Este trabalho demonstrou que a ativação ocorre até o final do processo formando o complexo protéico capaz de causar a lise osmótica das células sobre as quais se depositou.

#### **1.4- A Circulação Extracorpórea no paciente pediátrico**

A CEC realizada nos pacientes pediátricos apresenta algumas diferenças em relação ao paciente adulto:

a) Os oxigenadores de bolhas normalmente necessitam um perfusato mínimo de 600 ml. Isto significa que a relação entre a volemia da criança e o volume do perfusato é muito menor do que no adulto. Exemplificando: uma criança de 3 kg com volemia aproximada de 240ml será exposta à um perfusato de 600ml (relação 1:2.5) enquanto um adulto de 60 kg e como volemia aproximada de 5000ml será exposto à um perfusato de 1500ml (relação de 1:3). Por isto é freqüente o uso de sangue homólogo nos pacientes pediátricos até os 20 ks de peso.

b) O sangue, na criança, é exposto à uma superfície não endotelial muito maior que no adulto, porque a extensão dos tubos que conduzem o sangue da criança ao oxigenador e vice-versa e a própria superfície do oxigenador são proporcionalmente maiores em relação à superfície corporal da criança.

c) As crianças recebem fluxos proporcionalmente maiores que os adultos.

d) A CEC em crianças é realizada, em regra, com temperaturas mais baixas.

---

OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar através da dosagem plasmática dos níveis de C3 e de seu produto de ativação  $C3d$ , a ativação do sistema complemento em pacientes pediátricos com até 20 kg de peso, submetidos à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea, utilizando-se oxigenadores de bolhas infantil.

Embora existam publicações sobre este tema na literatura internacional, inexistem estudos avaliando as alterações do sistema complemento causadas pelos oxigenadores de bolhas produzidos no Brasil.

---

CASUÍSTICA, MATERIAIS  
E MÉTODOS

**3.1-Pacientes**

Após aprovação pela comissão de ética do Hospital Infantil Pequeno Príncipe, foram estudadas prospectivamente 19 crianças submetidas à correção de cardiopatias congênitas. As crianças foram divididas em dois grupos: grupo 1 formado por 10 crianças operadas com auxílio de CEC e grupo 2 formado por 9 crianças operadas sem auxílio de CEC. Foram excluídos os pacientes com doenças autoimunes, com infecção e sob corticoterapia.

A relação das cirurgias onde se utilizou CEC, com a idade dos pacientes, o tempo de perfusão e a temperatura mínima está mostrado na tabela 2. A relação das operações e a idade das crianças do grupo 2 está mostrada na tabela 3.

Tabela 2

Grupo 1: Operações realizadas no grupo 1 (como auxílio de circulação extra-corpórea)

Paciente	correção cirúrgica	idade (meses)	duração (min)	temp (°C)
01	TF	12	70	25
02	CIV	22	73	24
03	CIV e CIA	48	41	27
04	TF	19	71	24
05	CAVT	15	110	23
06	CIA	46	30	33
07	CIV	18	68	25
08	CIA	36	60	32
09	JAP	6	31	30
10	CIA	60	33	35

Legendas: TF-Tetralogia de Fallot; CIV- Comunicação inter-ventricular; CIA-Comunicação inter-atrial; CAVT- Canal Átrio-Ventricular Total; JAP- Janela Aorto Pulmonar.

Tabela 3

Operações realizadas no grupo 2 (sem auxílio de CEC)

Paciente	Tipo de Operação	Idade (meses)
1	Fechamento de Ductus Arteriosus	48
2	Correção de Coarctação de Aorta	12
3	Implante de Marca-Passo Epicárdico	60
4	Anastomose Sistêmico-Pulmonar	6
5	Anastomose Sistêmico-Pulmonar	3
6	Fechamento de Ductus Arteriosus	12
7	Anastomose Sistêmico-Pulmonar	7
8	Fechamento de Ductus Arteriosus	60
9	Anastomose Sistêmico-Pulmonar	7

Como drogas anestésicas foram usados Fentanil, Brometo de Pancurônio, Halotano ou Isoflurano. Oxigênio em concentrações de 33 a 50% e Protóxido de Nitrogênio (N<sub>2</sub>O) em concentrações de 66 a 50% foram utilizados até o início da CEC. Não se utilizou N<sub>2</sub>O após o final da CEC. No grupo 1 foi empregado o oxigenador de bolhas infantil (Macchi Engenharia Biomédica Ltda), descartável, com reservatório de 600ml, construído em termoplástico biocompatível e esterilizado em óxido de etileno.

O circuito da CEC foi preenchido com concentrado de hemácias e solução de Ringer lactato conforme protocolo do serviço de cirurgia cardíaca do Hospital Infantil Pequeno Príncipe. A anticoagulação durante a CEC foi obtida com heparina (Roche) na dose inicial de 3mg/kg e monitorada pelo tempo de coagulação ativada (TCA), procurando manter valores acima de 400'. No final da perfusão a heparina foi revertida com cloridrato de protamina (Roche) até atingir os valores do TCA inicial.

Nas crianças do grupo 1, foi infundida, na raiz da aorta, uma solução cardioplégica fria constituída de Solução Glicosada 5%-500ml; Gluconato de Cálcio 10%- 10ml; Cloreto de Potássio 19.1%- 10ml; Bicarbonato de Sódio 10%- 80ml e 150ml de concentrado de hemácias. Após corrigida a lesão cardíaca o reaquecimento do paciente foi feito com auxílio de permutador de calor localizado no oxigenador e com colchão térmico de água circulante.

### 3.1.1 Coleta do sangue

Imediatamente após a indução da anestesia com N<sub>2</sub>O a 66%, Oxigênio a 33% e Halotano ou Isoflurano, foi utilizado o cateter introduzido na artéria radial para monitorização transoperatória da pressão arterial, para coletar em seringas de

vidro esterilizadas, 10ml de sangue, distribuídos em dois tubos de vidro de 100 x 12mm; o tubo designado por A, contendo 0.5ml do anticoagulante EDTA dissódico 0.2M, pH 7.2 , recebeu 5 ml de sangue e foi colocado imediatamente em gelo; e o tubo B, sem anticoagulante. recebeu igual quantidade de sangue e, após coagulado foi colocado no gelo. A segunda amostra foi colhida de uma veia central, no final da cirurgia.

Logo após a coleta as amostras foram centrifugadas à 1.200 rpm por 10 minutos e distribuídas em triplicata em tubos de polietileno, inicialmente a -20 °C e após 3 horas definitivamente a -70 °C para posterior análise.

### 3.2 Materiais

#### 3.2.1 Oxigenador

A relação do material utilizado na construção do oxigenador infantil (Machi Engenharia Biomédica Ltda) utilizado em todos os paciente submetidos à CEC, segundo informações de origem, está apresentado na tabela 4.

Tabela 4

Material utilizado nos oxigenadores de bolhas infantil

Componentes do Oxigenador	Material utilizado
Carcaça do oxigenador	polimetilmetacrilato
Tubos do trocador de calor	alúminio anodizado
Elemento filtrante do reservatório arterial	poliuretano
Esponja anti-espumante	poliuretano

#### 3.2.2 Materiais utilizados nas técnicas de laboratório

a- Anticorpo anti complemento humano C3c ( código A062) e anti complemento humano C3d (código A063), ambos obtidos da Dako Immunocorporation, Copenhagem, Dinamarca.

b- Agarose (Sea Kem-tipo M.E Marine Colloide, Inc., Rockland, Maryland, EUA), diluída em tampão LISB a 1%

c- Polietilenoglicol 6000 (PEG) (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, EUA)

d- Tampão Barbitol-Tris-Glicina (BTG)- A solução estoque é obtida misturando-se os tampões A, B, C; tampão A: barbitol sódico (E.Merck AG, Darmstadt, Alemanha)- 65g; ácido barbitúrico (E. Merck AG, Darmstadt, Alemanha)- 10.35g; completar com água destilada para 3 litros. Tampão B: glicina (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, EUA)- 281g; tris (Trizma Base, Sigma Chemical Co., St. Louis Missouri, EUA) -226g; completar com água destilada para 3 litros. Tampão C: ácido diaminoetilenotetracético (EDTA)- sal dissódico (Sigma Chemical Co., St Louis, Missouri, EUA)- 66.5g; completar com água destilada para 4 litros. A solução estoque é guardada em câmara fria a 4°C com timerosal (Sigma Chemical Co., St Louis, Missouri, EUA) a 1:10.000. A solução para uso é preparada diluindo-se a solução-estoque a 1:3 em água destilada. Obtém-se então um tampão com ph 8.6.

e- Tampão PBS-EDTA (EDTA): (ethylenediamine-tetracetic acid -Sigma Chemical Co., St. Louis Missouri, EUA)

4 g de NaCl  
0.575 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>  
0.10 g de Na<sub>2</sub> EDTA  
qsp 500 ml de H<sub>2</sub>O destilada.

f- Solução corante: azul-brilhante de Coomassie R-250 (Sigma Chemical Co., St Louis, Missouri, EUA), 50g; etanol 96%-4500ml; ácido acético glacial-1000ml; água destilada- 4500ml. O corante é dissolvido em etanol acético e deixado à temperatura ambiente até o dia seguinte e, a seguir, filtrado.

g- Solução descorante: mesma fórmula que a solução corante, exceto pela adição de azul-brilhante. Ambas as soluções, corante e descorante, devem ser mantidas hermeticamente fechadas para evitar evaporação.

h- Solução-estoque 0,2M de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA): sal dissódico - 67.2g; ácido etilenodiaminotetracético (EDTA)- sal tetrassódico (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, EUA)-76gr; água destilada para completar 2 litros.

i- Placas de imunodifusão radial para dosagem do componente C3 (Nor-Partigen, Behring Institut, Alemanha), de acordo com as especificações de origem.

j- Cuba para eletroforese com capacidade para 2 litros de tampão (2117 Multiphor II, eletroforesis Unit, marca LKB Pharmacia Uppsala, Suécia).

l- Fonte de eletroforese LKB Pharmacia (0-500V e 0-100mA).

m- papel filtro Whatman No 1 ( England by W&R. BALSION LTD), espessura de 0.16mm.

### 3.3 Métodos:

#### 3.3.1 Preparo do soro ativado

O soro ativado que foi utilizado como controle foi obtido à partir de um "pool" de soros humanos normais ao qual foi adicionado azida sódica 0.1% e incubado por 4 dias a 37°C. Neste "pool" todo o C3 deve se converter em C3d. Estabeleceu-se que nesta solução existem 1000 unidades arbitrárias de C3d. Este soro ativado é diluído a 1:5 com PBS-EDTA e armazenado em temperaturas de -70°C. Esta solução é usada como controle positivo contendo 200 AU/ml.

#### 3.3.2 Dosagem do fragmento C3d

A dosagem do C3d foi realizada pelo método descrito por Brandslund e cols<sup>12</sup>, conhecida como imunoeletroforese quantitativa em duplo foguete. As várias etapas empregadas na execução do método são a seguir descritas:

a- O gel de agarose a 1% em tampão de Barbitol-Tris-Glicina (BTG) aquecido em banho-maria a 100°C foi colocado sobre uma placa de vidro 20x10 cm formando uma camada de 1mm de espessura;

b- após a polimerização, o gel foi dividido longitudinalmente em dois retângulos de 5x20 cm;

c- retirou-se o retângulo inferior de 5cm de agarose e neste espaço colocou-se o gel contendo o anticorpo policlonal anti C3c, na concentração de 2% em 9 ml

---

de agarose resfriada a 56 °C;

d- após a polimerização deste último gel recortou-se novamente a agarose e retirou-se o retângulo superior. Preparou-se então 18 ml de agarose a 56°C onde foram adicionados 45 µL do anticorpo policlonal anti-C3d na concentração de 0.25%;

e- após o resfriamento e polimerização, perfurou-se na base da placa vários poços alinhados, com 4 mm de diâmetro. Aplicou-se então 5 µL de cada amostra de plasma a ser analisada, diluída a 1:3 em tampão PBS-EDTA e mantida a 4 °C. Nos quatro últimos poços foi aplicada a curva padrão do soro ativado em quatro diluições: puro, 1:2, 1:4 e 1:8. O soro puro contém 200 AU/ml de C3d. Com os picos formados por estas 4 diluições deste soro ativado foi criada a curva padrão para o cálculo posterior da concentração de C3d das amostras testadas. Em dois poços foram aplicadas 2 amostras de soros frescos normais utilizados como controles normais.

f- a placa com o gel foi condicionada em câmaras de eletroforese que possui sistema de refrigeração para manter a temperatura a 4 °C. A corrida processou-se durante 16 horas com corrente contínua de 160 V e 40 mA sendo usado como tampão o Barbitol-Tris-Glicina (BTG) a 1:3 e pontes de papel WHATMAN no. 1.

g- finda a eletroforese a placa foi prensada com 2 kg de peso, utilizando-se papel de filtro e colocada para secar em estufa a 37°C. Para tornar possível a visualização dos picos resultantes da presença de C3 inativo e de C3 ativado e seu fragmento a placa foi corada por 20 minutos em solução de azul de Coomassie e descorada por alguns minutos até atingir o padrão ideal de leitura. A altura dos picos foi medida com régua milimetrada e seus valores avaliados em relação a curva dos soros controles ativados.

#### 3.3.2- Dosagem da concentração de C3

Para a avaliação dos níveis de C3 foram utilizadas as placas de imunodifusão radial simples para determinação do C3c humano (NOR-Partigen, Behring Institut, Alemanha).

Após retirado o envoltório de alumínio, as placas ficaram em temperatura ambiente por 5 minutos para evaporar alguma quantidade de água que poderia estar nos poços, e em seguida aplicou-se 5 µL de cada amostra de soros dos pacientes.

Após 48 horas de incubação em câmara úmida foram medidos através de régua específica para o método (Nor-Partigen C3c) os diâmetros dos halos formados e convertidos em mg/dl de acordo com tabela fornecida pelo fabricante.

#### 3.3.3 Análise Estatística

Os dados estão expressos como a média  $\pm$  desvio padrão. Para a comparação entre as médias foi aplicado o teste de Wilcoxon para valores exatos de p. Foram considerados estatisticamente significantes os valores de  $p < 0,05$  <sup>44,60,61</sup>.

---

## RESULTADOS

Os resultados para C3d estão expressos como percentual dos valores obtidos de amostras de plasma de controle de adultos normais.

Os resultados de C3 estão expressos em mg/dl.

A análise dos níveis de C3 mostrou ter havido um evidente consumo deste componente no grupo de pacientes submetidos à CEC (grupo 1), sendo que a média obtida na 1ª amostra (antes da operação) foi de  $84 \pm 14,7$  mg/dl e a obtida na 2ª amostra de  $34 \pm 8,2$  mg/dl (tabela 5). Esta diferença é estatisticamente significativa ( $p=0,007$ ) (tabela 7). O consumo do complemento neste grupo de pacientes foi confirmado pelos níveis significativamente aumentados de C3d na amostra obtida após a CEC ( $338 \pm 67,5$ ) em relação à amostra do início da operação ( $129 \pm 28,5$ ) (tabela 5).

Os pacientes submetidos à cirurgia cardíaca sem o auxílio da CEC não apresentaram redução estatisticamente significativa nos níveis de C3 na 2ª em relação à 1ª amostra ( $85,9 \pm 13,4$  vs  $91 \pm 11,9$ )(tabela 8) nem tampouco aumento nos valores de C3d ( $93 \pm 21,3$  vs  $86 \pm 15,1$ ) (tabela 6).

Os valores de C3d individualizados para todos os pacientes dos grupos 1 e 2 estão nos anexos 1 e 2, respectivamente;

Os valores de C3 individualizados para todos os pacientes dos grupos 1 e 2 estão nos anexos 3 e 4, respectivamente.

Tabela 5

Níveis de C3 e de seu fragmento C3d no grupo 1

Grupo 1	Variável	Média±DP	VM	VMX
	C3d	% do normal		
1ª amostra		129±28,5	100,0	180,0
2ª amostra		338±67,5	230,0	500,0
	C3	mg/dl		
1ª amostra		84,8±14,7	70,5	116,0
2ª amostra		34,2± 8,2	16,4	45,9

DP: desvio padrão; VM: valores mínimos; VMX: valores máximos

Tabela 6

Níveis de C3 e do fragmento C3d no grupo 2

Grupo 2	Variável	Média±DP	VM	VMX
	C3d	% do normal		
1ª amostra		86±15,1	62,0	113,0
2ª amostra		93±21,3	68,0	131,0
	C3	mg/dl		
1ª amostra		91,0±11,9	74,0	107,0
2ª amostra		85,9±13,4	70,5	111,0

DP: desvio padrão; VM: valores mínimos; VMX: valores máximos

Tabela 7

Comparação entre os valores médios de C3 da 1ª e 2ª amostras nos grupos 1 e 2

Grupo Comparado	Variável	Valor de p
<u>Grupo 1 (com CEC)</u>		
1ª amostra		
vs	C3	0,0076 *
2ª amostra		
<u>Grupo 2 (sem CEC)</u>		
1ª amostra		
vs	C3	0,1388 NS
2ª amostra		

Nota: utilizado o teste não-paramétrico de Wilcoxon, para amostras relacionadas que fornece o valor exato de p.

Legenda: \* estatisticamente significativo para  $p < 0,05$   
NS não significativo.

Tabela 8

Comparação entre os valores médios de C3d da 1ª e 2ª amostras nos grupos 1 e 2

Grupo Comparado	Variável	Valor de p
<u>Grupo 1 (com CEC)</u>		
1ª amostra		
vs	C3d	0,0056 *
2ª amostra		
<u>Grupo 2 (sem CEC)</u>		
1ª amostra		
vs	C3d	0,1096 NS
2ª amostra		

**Nota:** utilizado o teste não-paramétrico de Wilcoxon, para amostras relacionadas que fornece o valor exato de p.

**Legenda:** \* estatisticamente significativo para  $p < 0,05$

NS não significativo.

---

DISCUSSÃO

C3 é o componente central da seqüência de ativação do complemento, o que possui a mais alta concentração plasmática e é comum à ambas as vias, clássica e alternativa<sup>3</sup>. De sua conversão resulta C3b que, uma vez metabolizado, produz dois outros fragmentos: C3c e C3d. O primeiro é rapidamente catabolizado e desaparece da circulação. Já o metabolismo do C3d é relativamente lento e como resultado de seu baixo peso molecular atinge em curto espaço de tempo o plasma a partir da difusão dos locais extravasculares onde está sendo ativado<sup>62</sup>. Desta forma a determinação das concentrações plasmáticas de C3d e de C3 constitui-se de um método extremamente útil e adequado para se avaliar a ativação do complemento *in vivo*<sup>18</sup>.

No presente trabalho, as crianças submetidas à CEC apresentaram redução nos níveis de C3 e aumento dos níveis de C3d. Estes dados comprovam ter havido consumo e ativação do sistema complemento. Estas alterações estão de alguma forma relacionadas com a CEC porque as crianças submetidas às cirurgias sem este procedimento não apresentaram alterações significantes nos níveis de C3 nem tampouco nos de C3d.

Pelo menos quatro fatores, presentes no grupo 1 (com CEC) mas não no 2 (sem CEC), podem estar envolvidos, isolada ou conjuntamente, no processo de ativação: a) exposição do sangue às superfícies não endoteliais encontradas no circuito da CEC; b) a oxigenação do sangue pelo contacto direto com o oxigênio; c) uso de sangue homólogo ou derivados no perfusato e após a CEC; d) uso da protamina para neutralizar a heparina.

Vários estudos demonstram que o contacto direto do sangue com superfícies não endoteliais e com o oxigênio pode ativar o complemento: a) a infusão em coelhos e ovelhas de sangue autólogo incubado com o celofane utilizado nas membranas dialisadoras dos equipamentos de hemodiálise reproduziu as mesmas alterações encontradas nos pacientes renais submetidos à hemodiálise como neutropenia, leucostasia, intenso infiltrado de leucócitos na circulação pulmonar e edema intersticial. Esta síndrome não ocorreu quando foi utilizado, em outro grupo de animais submetidos ao mesmo procedimento, plasma autólogo cujo complemento fora inativado<sup>20</sup>; b) o contacto do sangue, *in vivo* e *in vitro*, com fibras de nylon utilizadas em vários equipamentos de CEC<sup>17,27,50</sup>, resultou em níveis aumentados de produtos de ativação do complemento; c) o contacto do sangue com os tubos plásticos de cloreto de polivinil (PVC) presentes nos circuitos da CEC ativou o complemento<sup>42</sup>; d) a exposição do sangue, *in vitro*, a diferentes tipos de oxigenadores levou a vários graus de ativação do complemento humano<sup>69</sup>; e) o borbulhamento do oxigênio diretamente no sangue promoveu desnaturação das proteínas plasmáticas<sup>54</sup>, liberação de substâncias vasoativas<sup>30</sup> e ativação do complemento<sup>17,75</sup>. Estes dois mecanismos, o contacto do sangue com superfícies não endoteliais e a sua exposição diretamente ao oxigênio, podem portanto justificar os nossos resultados porque nos oxigenadores de bolhas empregados em nossos pacientes o desborbulhamento é feito pela passagem do sangue através de esponjas de fibras de nylon, o corpo do oxigenador, filtros e tubos são feitos de material plástico e, para que ocorra eficiente oxigenação é necessária uma ampla interface sangue/oxigênio que é obtida com uma grande dispersão do oxigênio diretamente no sangue em forma de bolhas.

As cirurgias cardíacas, principalmente as realizadas em pacientes de baixo peso, freqüentemente requerem o uso de sangue homólogo para o enchimento do circuito do equipamento de CEC. Em regra, neste grupo de pacientes, o volume final

do perfusato é constituído de sangue total ou concentrado de hemácias e solução de Ringer lactato. Embora muitos autores não tenham considerado uma possível contribuição do sangue nas alterações do complemento<sup>11,15,16,28,39,51,54</sup>, alguns trabalhos demonstram que a sua utilização no perfusato pode estar relacionada com a ativação do complemento<sup>29,66</sup>. Em estudo realizado em 86 pacientes submetidos à operações do coração, foi demonstrado que os níveis plasmáticos das anafilatoxinas C3a e C5a eram maiores quando a quantidade do sangue homólogo utilizada no perfusato ultrapassava a 20% da volemia do paciente<sup>66</sup>. A utilização no perfusato apenas de soluções cristalóides no entanto, não impediu a ativação do complemento, apenas ela ocorreu em menor intensidade. O sangue homólogo fornecido pelos bancos de sangue pode conter fragmentos resultantes da ativação do complemento. A análise *in vitro* de 10 amostras de sangue, coletadas e estocadas por até 24 dias em ACD (ácido citrato dextrose) ou em CPD (citrato fosfato dextrose), mostrou ter havido conversão de C3 em 8 amostras. Quando o sangue dos mesmos doadores foi armazenado em EDTA (uma substância que bloqueia a ativação do complemento) a -70°C e pelo mesmo período de tempo não houve alteração nos níveis de C3<sup>29</sup>.

No presente trabalho não nos é possível avaliar a proporção da ativação de C3 através dos níveis de C3d que poderiam ter ocorrido devido ao uso do sangue homólogo porque todos os pacientes o receberam no perfusato. Como o complemento é um constituinte do plasma e nós usamos concentrado de hemácias é provável que a participação do sangue homólogo nestes casos tenha sido menor do que a relatada pelos autores que utilizaram sangue total.

Existem evidências de que a interação heparina-protamina pode causar ativação do complemento. São descritas reações adversas graves como falência miocárdica e edema pulmonar de origem não cardiogênica após a neutralização da heparina com a protamina<sup>19,52</sup>. Um dos mecanismos propostos para esta ativação é que a interação entre a heparina (um polianion) e a protamina (um polication) funcionaria com um complexo antígeno-anticorpo, ativando a cascata do complemento<sup>57</sup>.

Corroborar esta hipótese o fato de que os níveis plasmáticos das anafilatoxinas C3a e C4a<sup>16</sup> e dos produtos da degradação de C3 como o C3d<sup>52</sup> estão em geral, muito mais elevados após a neutralização da heparina com a protamina do que antes do uso da protamina, sugerindo uma relação causa/efeito<sup>9</sup>.

Este mecanismo pode ter contribuído nas alterações dos níveis do complemento encontrada em nossos pacientes submetidos à CEC porque a 2ª amostra de todos os pacientes do grupo I foi colhida após a neutralização da heparina pela protamina.

Vários trabalhos utilizaram como nós a dosagem dos níveis de C3d como método de avaliação de ativação do complemento<sup>3,18,41</sup>. Estes trabalhos foram realizados em pacientes adultos submetidos à cirurgias cardíacas onde foram utilizadas diferentes marcas de oxigenadores de bolhas e ausência de sangue homólogo no perfusato. Apesar destas diferenças os níveis de C3d foram muito semelhantes em todas as séries: houve aumento médio de 200 a 300% em relação ao controle. Isto demonstra que a CEC pode provocar alterações semelhantes no sistema complemento independente da idade do paciente, da especificação dos oxigenadores e do tipo de perfusato usado.

Passados 40 anos desde a introdução na prática clínica da CEC, é visível a evolução que aconteceu no campo da cirurgia cardíaca. A CEC se tornou muito mais

segura, surgiram melhores materiais, os custos se reduziram e ficou possível a utilização de material descartável. No entanto os dados nossos e os da literatura demonstram que a CEC ainda é vista pelo organismo como um agente agressor, porque o sistema complemento, um dos seus principais meios de defesa, é acionado na maioria das vezes em que ela é utilizada. As complicações vistas hoje são certamente menos graves e menos freqüentes que aquelas das primeiras perfusões mas ainda são responsáveis, em muitos casos, por um período pós operatório mais prolongado, dispendioso e doloroso e podem alterar o resultado de uma correção cirúrgica adequada. Inúmeras são as evidências de que os resultados da cirurgia cardíaca poderão melhorar com a melhora dos equipamentos de CEC. Os resultados obtidos na década de 50 na correção das cardiopatias congênitas, utilizando os pais como oxigenadores, em circulação cruzada com a criança, só foram igualados quase 30 anos depois, com a utilização da CEC<sup>74</sup>; operações de revascularização do miocárdio, realizadas sem CEC, apresentaram mortalidade de 2.5 vezes menores do que pela técnica convencional<sup>13,25</sup>.

Como perspectivas futuras estão a busca de materiais mais biocompatíveis ou tornados mais biocompatíveis através de revestimentos nos tubos e paredes dos oxigenadores com película de heparina<sup>71,72</sup> e talvez a descoberta de drogas que possam bloquear a cascata de ativação do complemento e impedir seu efeito deletério.

---

CONCLUSÕES

6.1 A circulação extracorpórea (CEC) com oxigenadores de bolhas ativa o sistema complemento de pacientes pediátricos submetidos à operações cardíacas, diferente do que ocorre nos pacientes pediátricos submetidos ao mesmo tipo de procedimentos anestésico-cirúrgicos, sem CEC.

---

REFERÊNCIAS  
BIBLIOGRÁFICAS

- 01-ABEL, R.M.; BUCKLEY, M.J, AUSTEN, W.G.; BARNETT, G.O.; BECK, C.H.; FISCHER, J.E. Aetiology, incidence and prognosis of renal failure following cardiac operation. **J Thorac Cardiovasc Surg**, 71:323-333, 1976.
- 02-ABEL, R.M.; WICK, J.; BECK, C.H.; TUCKLEY, M.J.; AUSTEN, W.G. Renal failure following open heart operation. **Arch Surg** 108:175-177, 1974.
- 03-ANTONSEN, S.; BRANDSLUND, I.; CLEMENSEN, S.; SOFELDT, S.; MADSEN, T.; ALSTRUP, P.: Neutrophil Lysosomal Enzyme Release And Complement Activation During Cardiopulmonary Bypass. **Scand J Thor Cardiovasc Surg** 21:47052, 1987
- 04-ASADA, S.; YAMAGUCHI, M. Fine Structural Change in the Lung following Cardiopulmonary Bypass. Its relationship to Early Postoperative Course. **Chest**, 59:478-483, 1971
- 05-ASLAN, R.; TUNERIR, B.; DERNEK, S.; KURAL, T.; SEVIN, B.; KAKLIK-KAYA, I.; MANTL, Z. The factors affecting complement activation in open heart surgery. **J Cardiovasc Surg**, 33:754-760, 1992
- 06-BACHMANN, F.; MCKENNA, R.; COLE, E.R.; NAJAFI, H. The haemostatic mechanism after open heart surgery. I. Studies in plasma coagulation factors and fibrinolysis in 512 patients after extracorporeal circulation. **J Thorac Cardiovasc Surg**, 70:76-85, 1975
- 07-BENGTSON, A.; MILLOCCO, I.; HEIDEMAN, M.; BERGGREN, H.: Altered Concentrations of Terminal Complement Complexes Anaphylatoxins, and Leukotrienes in the Coronary Sinus During Cardiopulmonary Bypass. **J Cardiothorac Anesth** 3:305-310, 1989
- 08-BETHUNE, D.W. Bubble Oxygenation In: TAYLOR, K.M. **Cardiopulmonary Bypass**. Chapman and Hall, London, 161-176, 1985.
- 09-BEST, N.; SINOSICH, M.J.; TEISNER, B.; GRUDZINSKAS, G.; FISHER, MCD. Complement activation during cardiopulmonary bypass by heparin-protamine interaction. **Br J Anaesth** 56:339-343, 1984.
- 10-BIER, O.G.; MOTA, J.; DIAS DA SILVA, W.;VAZ, N.M. Complemento. In: **Imunologia Básica e Aplicada**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, pg131-153, 1979.
- 11-BORALESSA, H.; SHIFFERLI, J. A.; ZAIMI, F.; WATTS, E.; WITHWAM, J.G.; REE, J.A.: Perioperative Changes in Complement Associated with Cardiopulmonary Bypass. **Br J Anaesth**. 54:1047-1052, 1982.
- 12-BRANDSLUND, I.; SIERSTED, H.C.; SVEHAG, S.E; TEISNER, B. Double-Decker Rocket Immunoelectrophoresis for Direct Quantitation of Complement C3 Split Products with C3d Specificities in Plasma. **J Immunol Methods** 44:63-71, 1981.
- 13-BUFFOLO, E.; ANDRADE, J,C,S.; SUCCI, J.E.; LEÃO, L.E.V. Revascularização direta do miocárdio sem circulação extracorpórea: estudo crítico dos resultados em 391 pacientes. **Rev Bras Cir Cardiovasc**, 1:32-39, 1986
- 14-CAT, R. **Avaliação do Sistema Complemento em Recém Nascidos com Síndrome do Desconforto Respiratório**. Dissertação de mestrado da disciplina de Pediatria da UFPR, 1991

- 
- 15-CAVAROCCHI, N.C.; PLUTH, J.R.; SCHAFF, H.V.; ORSZULAK, T.A.; HOMBURGER, H.A.; SOLIS, E.; KAYE, M.P.; CLANSY, M.S.; KOLFF, J.; DEEB, M. Complement activation during cardiopulmonary bypass. Comparison of bubble and membrane oxygenators. **J Thorac Cardiovasc Surg** 91:252-258, 1986.
- 16-CAVAROCCHI, N.C.; SCHAFF, H.V.; ORSZULAK, T.A.; HOMBURGER, H.A.; SCHNELL, W.A.; PLUTH, J.R. Evidence for complement activation by protamine-heparin interaction after cardiopulmonary bypass. **Surgery** 3:525-531, 1985.
- 17-CHENOWETH, D.E.; COOPER, S.W.; HUGLI, T.E.; STEWART, R.W.; BLACKSTONE, H.E.; KIRKLIN, J.W. Complement Activation during Cardiopulmonary Bypass. Evidence for generation of C3a and C5a Anaphylatoxin. **N Engl J Med** 304:497-503, 1981
- 18-COLLETT, B.; ALHAQ, A.; ABDULLAH, N.B.; KORJTSAS, L.; WARE, R. J.; DODD, N.J.; ALIMU, E.; PONTE, J.; VERGANI, D.: Pathways to complement activation during cardiopulmonary bypass. **British Medical Journal**, 289: 1251-1284, 1984
- 19-COLMAN, R.W. Humoral Mediators of Catastrophic Reaction Associated with Protamine Neutralization. **Anesthesiology** 66:595-596, 1987.
- 20-CRADDOCK, P.R.; FEHR, J.; BRIGHAM, K.L.; KRONENBERG, R.S.; JACOB, H. S. Complement and Leucocyte-Mediated Pulmonary Dysfunction in Hemodialysis. **N Engl J Med**, 296: 769-774, 1977
- 21-FOSSE, E.; MOLLNES, T.R.; ASEN, A.O.; TRUMPY, J.H.; STOKKE, T. Complement activation following multiple injuries. **Acta Chir Scand** 153:325-330, 1987
- 22-FRANK, M.M. Complement in the pathophysiology of human disease. **N Engl J Med**. 316: 1525-1530, 1987
- 23-FRANK, M.M. Complement & Kinin. In: FUDENBERG, H.H.; STITES, K.P.; CALDWELL, J.L.; WELL, J.V. **Imunologia Básica Clínica**, 2ª ed, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 161-174, 1991.
- 24-GIBBON, J.H. The Lewis A. Conner Memorial Lecture. Maintenance of Cardiorespiratory Functions By Extracorporeal Circulation. **Circulation**. 9:646-655, 1959
- 25-GOMES W.J. Ativação Leucocitária Durante a Circulação Extracorpórea. A próxima Meta do Conhecimento. **Arq Bras Cardiol**, 60:3-5, 1993
- 26-GRANT, J.A.; DUPREE, E.; GOLDMAN, A.S.; SCHULTZ, D.R.; JACKSON, A.L. Complement-mediated release of histamine from human leukocytes. **J Immunol**, 114:1101-1106, 1975.
- 27-HAMMERSCHMIDT, D.E.; CRADDOCK, P.R.; MCCULLOUGH, M.J.; KRONENBERG, R.S.; DALMASSO, A.P.; JACOB, J.S. Complement activation and pulmonary leukostasis during nylon fiber filtration leukopheresis. **Blood** 51: 721-730, 1978.
- 28-HAMMERSCHMIDT, D.E.; STROCEK, D.F.; BOWERS, T.K.; LAMMI-KEEFE, C.J.; KURTH, D.M.; OZALINS, A.; NICOLOFF, D.M.; LILLEHEI, R.C.; CRADDOCK, P.R.; JACOB, H.S. Complement activation and neutropenia occurring during cardiopulmonary bypass. **J Thorac Cardiovasc Surg** 81: 370-377, 1981.
- 29-HASLAM, P. L.; BRANTHWAITE, M.A.T. Complement Activation during cardiopulmonary bypass. **Anaesthesia**, 35-22-26, 1980
-

- 
- 30-HOLLEMBERG, M.; PRITES, R.; THAL A. Vasoactive Substances Liberated By prolonged Bubble Oxygenation. **J Thorac Cardio Surg** 45:402, 1963
- 31-HOWATT, W.F.; TALNER, N.S.; SLOAN, H.; DEMUTH, G.R.; MICH, A.A. Pulmonary Function Changes Following Repair of Heart Lesions with the Aid of Extracorporeal Circulation. **J Thoracic Cardiovasc Surg** 43:649-657, 1962
- 32-HYDE, R.M.; PATNODE, R.A. **Immunology**, 1ª edição, New York, Harwal Publishing Company, 41-48, 1987.
- 33-JOHNSON, A.R.; HUGLI, T.E.; MULLER-EBERHARD, H.J. Release of histamine from rat mast cells by complement peptides C3a and C5a. **Immunology** 28:1067-1080, 1975.
- 34-JONES, J.M.; MATTHEWS, N.; VAUGHAN, R.S: Cardiopulmonary bypass and complement. Involvement of classical and alternative pathways. **Anaesthesia**, 37:629-633, 1982
- 35-KALMAN, P.G.; WALDCA, C.A.; MCCULLOUGH, D. Reduction of complement activation by dacron with denucleation. **J Cardiovasc Surg** 34:396, 1990.
- 36-KAY, A.B.; SHIN, H.S.; AUSTEN, K.F. Selective attraction of eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis and a fragment cleaved from the fifth component of complement (C5a). **Immunology**, 24:969-976, 1973
- 37-KAPLOW, L.S.; GOFFINET, J.A. Profound neutropenia during the early phase of hemodialysis. **JAMA** 203:1135-1137, 1968.
- 38-KIRKLIN, J.K. The Post Perfusion Syndrome: Inflammation and Damaging Effects of Cardiopulmonary Bypass, In: TINKER, J.H. **Cardiopulmonary Bypass. Current Concepts and Controversies**, WB Saunders Company, Philadelphia 131-146, 1989
- 39-KIRKLIN, J.K.; WESTABY S, BLACKSTONE E H.; KIRKLIN, J.W.; CHENOWETH, D.E.; PACIFICO, A.D. Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. **J Thorac Cardiovasc Surg** 86: 845-857, 1983
- 40-KNUDSEN, F.; ANDERSEN, W.L. Immunological Aspects of Cardiopulmonary Bypass. **J Cardiothorac Anesth** 4: 245-258, 1990
- 41-KNUDSEN, F.; PEDERSEN, J.O.; JUHL, O.; NIELSEN, A.H.; JERSILD, C. Complement an Leukocytes During Cardiopulmonary Bypass: Effects on Plasma C3d and C5a, Leukocyte Count, Release of Granulocyte Elastase and Granulocyte Chemotaxis. **J Cardiothorac Anesth**, 2:164-170,1988
- 42-KUTSAL, A.; ERSOY, U.; ERSOY, F.; YENIAY, I.; BAKKALOGLU, A.; BOZER, Y.A. Complement activation during cardiopulmonary bypass. **J Cardiovasc Surg**, 30:359-363, 1989
- 43-LAKE, L.G.; SCHWARTZ, A.J.; CAMPBELL, F.W. Extracorporeal Circulation. In: LAKE., C.L. **Pediatric Cardiac Anesthesia**. Appleton & Lange, Norwalk 155-180, 1988.
- 44-LEAL, J. Tabelas Estatísticas, obtidas por computador. Curitiba, **Criar**: 47, 1983.
- 45-MCKENNA, R.; BACHMANN, F.; WHITTAKER, B.; GILSON, J.R.; WEINBERG, M. The haemostatic mechanism after open heart surgery. II. Frequency of abnormal platelet function during and after extracorporeal circulation. **J Thorac Cardiovasc Surg**, 70:298-308, 1975.
-

- 
- 46-MELROSE, K.G. A history of Cardiopulmonary Bypass. In: TAYLOR, K.M. **Cardiopulmonary Bypass**. London, Chapman and Hall 2-13, 1985
- 47-MILLER, D.R., KUENZIG M.C.: Pulmonary Changes Following Normothermic and Profound Hypothermic Perfusion in Dogs. **J Thorac Cardiovasc Surg**, 56:717-731, 1968
- 48-MORGAN, T.E. Pulmonary surfactant. **N Eng J Med** 284:1185, 1971
- 49-NELSON, R.D.; QUIE, P.G.; SIMMONS, R.L. Chemotaxis under agarose: A new and simple method for measuring chemotaxis and spontaneous migration of human polymorphonuclear leukocytes and monocytes. **J Immunol** 115:1650-1656, 1975.
- 50-NUSBACHER, J.; ROSENFELD, S.I.; MACPHERSON, J.L.; THIEM, P.A.; LEDDY, J. Nylon fiber leukopheresis associated complement changes and granulocytopenia. **Blood** 51:359-365, 1978.
- 51-OEVEREN, W.V.; KAZATCHKINE, M.D.; DESCHAMPS-LATSCHA, B.; MAILLET, F.; FISCHER, E.; CARPENTIER, A.; WILDEVUUR C.R.H. Deleterious effects of Cardiopulmonary Bypass: A prospective study of bubble versus membrane oxygenation. **J Thorac Cardiovasc Surg** 89:888-899, 1985.
- 52-OLINGER, N.G.; BECKER, R.M.; BONCHEK, L.I. Noncardiogenic Pulmonary Edema and Peripheral Vascular Collapse Following Cardiopulmonary Bypass: Rare Protamine Reaction? **Ann Thorac Surg** 29:20-25, 1980.
- 53-OSBORN, J.J. Respiratory Insufficiency following open heart surgery. **Ann Surg** 156: 638, 1962
- 54-PARKER, D.J.; CANTRELL, J.W.; KARP, R.B.; STROUD, R.M.; DIGERNESS, S.B. Changes in serum complement and immunoglobulin following cardiopulmonary bypass. **Surgery**, 6:824-827, 1972
- 55-PIERCE, E.C. Membrane Oxygenation, In: TAYLOR, K.M. **Cardiopulmonary Bypass**. Chapman and Hall, London, 177-210, 1985:
- 56-RATLIFF, N.B; YOUNG, G.; HACKEL, .D.B.; MIKAT, E.; WILSON, J.W. Pulmonary Injury Secondary to Extracorporeal Circulation: An ultrastructural study. **J Thorac Cardiovasc Surg**. 65:425-432, 1973
- 57-RENT. R.; ERTEL, N.; EISENSTEIN, R.; GEWURZ, H. Complement activation by interaction of polyanion and polycation. Heparin-Protamine induced consumption of complement. **J Immunol** 114:120-124, 1975
- 58-SALAMA A, HUGO F, HEINRICH D.; HÖGE, R.; MÜLLER R.; KIEFEL, V.; ECKHARDT-MULLER C.; BHAKDI S. Deposition of Terminal C5b9 Complement Complexes on Erythrocytes and Leukocytes during Cardiopulmonary Bypass. **N Engl J Med**, 318-408-414, 1988
- 59-SILVA, D.W.; KIPNIS, T.L. Sistema Complemento: um engenhoso mecanismo bioquímico, um co-participante em defesa natural e um mediador de interações celulares. **Rev Ass Med Brasil** 30:67-72, 1984
- 60-SIEGEL, S. **Estatística não paramétrica, para as ciências do comportamento**. Mcgraw-Hill do Brasil Ltda, 350, 1975.
- 61-SPIEGEL, M. R. **Estatística**. Rio de Janeiro, coleção Schaum. Mcgraw-Hill do Brasil Ltda, 13ª ed, pg580, 1979
- 62-STITES, D.P.; RODGERS C. Clinical Laboratory Methods for Detection of An-
-

- tigens and Antibodies. In: STITES, D.P.; TERR, A.I. **Basic and Clinical Immunology**, 7a Edição. Lange Medical Publication, Connecticut, 217-223, 1991.
- 63-TILNEY, N.L.; HESTER, W.J. Physiologic and Histologic Changes in the Lungs of Patients Dying after Prolonged Cardiopulmonary Bypass: An Inquiry into the Nature of Post-Perfusin Lung. **Ann Surg** 166:759-765, 1967
- 64-TINKER, J.H.; ROBERTS, S.L. Management of Cardiopulmonary Bypass. In KAPLAN J. **Cardiac Anesthesia**, Vol 2, New York, G&S, 895-926, 1987.
- 65-TOBIAS, M.A. Choice of Priming Fluids. In: TAYLOR, K.M. **Cardiopulmonary Bypass**. Chapman and Hall, London, 221-248, 1985.
- 66-TAMIYA, T.; YAMASAKI, M.; MAEO, Y.; YAMASHIRO, T.; OGOSHI, S.; FUJIMOTO, S. Complement Activation in Cardiopulmonary Bypass, with Special Reference to Anaphylatoxin Production in Membrane and Bubble Oxygenators. **Ann Thorac Surg** 46:47-57, 1988
- 67-VAN VELZEN-BLAD, H.; KUIKSTRA, Y. J.; SCHURINK, G.A.; VERBRUGH, G.A.; VERHOEF, J.; ZEGERS, B.J.M.; BALLIEUX, R.E. Cardiopulmonary Bypass in Human Beings: I. Serum Levels and Role of Immunoglobulin and Complement in Phagocytosis. **Ann Thorac Surg** 39:207-211, 1985
- 68-VERMES, L.M.S. Complemento. In: CALICH, V.L.G; VAZ, C.A.C. **Imunologia Básica**. São Paulo, Livraria Editora Artes Médicas Ltda, pag 105-122, 1988.
- 69-VIDEM, V.; FOSSE, E.; MOLLNES, T.E.; ELLINGSEN, O.; PEDERSEN, T.; KARLSEN, H. Different oxygenators for cardiopulmonary bypass lead to varying degrees of human complement activation in vitro. **J Thorac Cardiovasc Surg**, 97:764-770, 1989
- 70-VIDEM, V. Letter to the editor. **J Thorac Cardiovasc Surg** 98:296, 1989.
- 71-VIDEM, V.; MOLLNES, T.E.; GARRED, P.; SVENNEVIG, J.L. Biocompatibility of extracorporeal circulation In vitro comparison of heparin-coated and uncoated oxygenator circuits. **J Thorac Cardiovasc Surg** 101: 654-660, 1991
- 72-VIDEM, V.; SVENNEVIG, J.L.; FOSSE, ERIK.; SEMB, G.; OSTERUD, A.; MOLLNES, T.E. Reduced complement activation with heparin-coated oxygenator and tubings in coronary bypass operations. **J Thorac Cardiovasc Surg** 103:806-813, 1992.
- 73-VOLANAKIS, J.E. Invited letter concerning: Complement activation caused by different oxygenators. **J Thorac Cardiovasc Surg** 98:292-295, 1989
- 74-WESTABY, S. Complement and damaging effects of cardiopulmonary bypass. **Thorax** 38:321-325, 1983.
- 75-WESTABY, S. Organ dysfunction after cardiopulmonary bypass. A systemic inflammatory reaction initiated by the extracorporeal circuit. **Intens Care Med**, 13:89-95, 1987.

---

ANEXOS

**Anexo I**

Grupo 1- Resultado da determinação de C3d em altura do pico de imunoeletroforese (em cm), unidades arbitrárias e percentual em relação aos controles obtidos dos controles normais. As amostras A1 e A2 foram obtidas do plasma, respectivamente, no início e no final das operações

Paciente	pico (cm)	AU	% do controle
01 A1	0,6	45	150
01 A2	1,3	150	500
02 A1	0,5	39	130
02 A2	1,2	104	340
03 A1	0,4	30	100
03 A2	0,9	71	230
04 A1	0,4	30	100
04 A2	1,0	90	300
05 A1	0,6	45	150
05 A2	1,1	105	350
06 A1	0,4	30	100
06 A2	1,2	104	340
07 A1	0,7	54	180
07 A2	1,2	104	340
08 A1	0,6	45	150
08 A2	1,2	104	340
09 A1	0,5	39	130
09 A2	1,2	104	340
10 A1	0,4	30	100
10 A2	1,0	90	300

**Legenda-** AU: unidade arbitrária; % do controle: valores em relação aos obtidos em controles; pico: altura do pico de imunoeletroforese formado na placa..

Controle ativado (curva padrão)

soro puro	3,6 cm	200AU
diludo 1:2	2,3 cm	100AU
diludo 1:4	1,4 cm	50AU

Valores encontrados nos indivíduos normais: 0.4 cm=30 AU;

---

## Anexo 2

Grupo 2: Resultado da determinação de C3d em altura do pico de imunoelektroforese (em cm), unidades arbitrárias e percentual em relação aos controles obtidos dos controles normais. As amostras A1 e A2 foram obtidas do plasma, respectivamente, no início e no final das operações

Paciente	pico (cm)	AU	% do controle
11A1	0,7	75	86,2
11A2	0,7	75	86,2
12A1	0,5	54	62,0
12A2	0,6	60	68,9
13A1	0,7	75	86,2
13A2	1,0	114	131,0
14A1	0,9	99	113,0
14A2	0,9	99	113,0
15A1	0,7	75	86,2
15A2	0,7	75	86,2
16A1	0,7	75	86,2
16A2	0,7	75	86,2
17A1	0,6	60	68,2
17A2	0,6	60	68,2
18A1	0,7	75	86,2
18A2	0,7	75	86,2
19A1	0,8	87	100,0
19A2	0,9	99	113,0

**Legenda--AU: unidade arbitrária; % do controle: valores em relação aos obtidos em indivíduos normais; pico: altura do pico formado na placa de vidro, pela eletroforese.**

Controle ativado (Curva Padrão).

soro puro	3,5 cm	200AU
diludo 1:2	2,2 cm	100AU
diludo 1:4	1,4 cm	50AU

Valores encontrados nos indivíduos normais: 0,8 cm=87 AU

---

### Anexo 3

Grupo 1- Resultado da determinação de C3 através do diâmetro do halo de imunoprecipitação. Os valores são fornecidos em mg/dl. B1 e B2 designam as amostras colhidas no início e final das operações respectivamente.

---

	diâmetro (mm)	valor (mg/dl)
01 B1	6,8	116,0
01 B2	4,5	30,3
02 B1	6,2	90,0
02 B2	4,5	30,3
03 B1	6,4	98,2
03 B2	4,6	33,3
04 B1	5,8	74,2
04 B2	5,0	45,9
05 B1	5,7	70,5
05 B2	4,8	39,5
06 B1	5,8	74,2
06 B2	4,5	30,3
07 B1	6,0	82,0
07 B2	4,7	36,4
08 B1	6,3	94,1
08 B2	4,7	36,4
09 B1	5,7	70,5
09 B2	4,8	16,4
10 B1	5,9	78,1
10 B2	4,9	42,7

---

---

**Anexo 4**

Grupo 2: Resultado da determinação de C3 através do diâmetro do halo de imunoprecipitação. Os valores são fornecidos em mg/dl. B1 e B2 designam as amostras colhidas no início e final das operações respectivamente.

Paciente	diâmetro (mm)	valor (mg/dl)
11 B1	6,3	94,1
11 B2	5,9	78,1
12 B1	6,5	101,0
12 B2	6,4	98,0
13 B1	5,8	74,0
13 B2	5,9	79,0
14 B1	6,5	103,0
14 B2	6,4	98,2
15 B1	5,9	78,1
15 B2	5,7	70,5
16 B1	6,2	90,0
16 B2	5,8	74,2
17 B1	6,6	107,0
17 B2	6,7	111,0
18 B1	5,9	78,1
18 B2	6,0	82,0
19 B1	6,3	94,1
19 B2	6,0	82,01

---