



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

**Centro Biomédico**

**Faculdade de Ciências Médicas**

**Vlander Gomes Costa Junior**

**Avaliação da função endotelial microvascular, da rigidez arterial e da resposta inflamatória sistêmica em pacientes submetidos à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea**

Rio de Janeiro

2010

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Vlander Gomes Costa Junior

**Avaliação da função endotelial microvascular, da rigidez arterial e da resposta inflamatória sistêmica em pacientes submetidos à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea**

Tese apresentada como requisito para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovado em \_\_\_\_\_

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Eduardo Tibiriçá (Orientador)  
Laboratório de Fisiologia Neurocardiovascular do Instituto Oswaldo Cruz

---

Prof. Dr. Nivaldo Ribeiro Villela  
Faculdade de Ciências Médicas da UERJ

---

Profa. Dra. Maria José Carvalho Carmona  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

---

Profa. Dra. Marília de Brito Gomes  
Faculdade de Ciências Médicas da UERJ

---

Prof. Dr. Marcelo Pelajo Machado (Revisor)  
Laboratório de Patologia do Instituto Oswaldo Cruz

Rio de Janeiro

2010

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Eduardo Tibiriçá, pelo estímulo, incentivo e supervisão;

Ao meu querido amigo e “irmão mais velho” Marcelo Pelajo Machado pelos infinitos ensinamentos, que incluíram os primeiros contatos com a informática até a bancada do laboratório;

Ao meu querido amigo Marcos Adriano da Rocha Lessa, pelo incentivo e pela oportunidade oferecida;

Aos meus queridos orientadores e amigos Henrique Leonel Lenzi e Jane Arnt Lenzi, que me apresentaram o maravilhoso mundo da pesquisa e que tornaram o sonho da Fiocruz uma realidade para mim;

Aos meus pais e minha irmã, pelo carinho, pela dedicação e pelo caráter. Sem eles, nada seria possível;

À minha esposa pelo carinho e dedicação;

À Maria de Fátima Bevilacqua, pela realização dos exames laboratoriais;

Ao Bruno Nunes Benedito, pela seriedade no trabalho técnico.

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

C837 Costa Junior, Vlander Gomes.  
Avaliação da função endotelial microvascular, da rigidez arterial e da resposta inflamatória sistêmica em pacientes submetidos a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea / Vlander Gomes Costa Junior. - 2010.  
101 f.

Orientador: Eduardo Tibiriçá.  
Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas, Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental.  
Bibliografia : f.85-101.

1. Microcirculação - Teses. 2. Procedimentos cirúrgicos cardiovasculares - Teses. 3. Circulação extracorpórea - Teses. Tibiriçá, Eduardo. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 612.13

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

## RESUMO

GOMES-COSTA, JR, Vlander. *Avaliação da função endotelial microvascular, da rigidez arterial e da resposta inflamatória sistêmica em pacientes submetidos a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea*. 2010. 101f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

A Cirurgia de Revascularização do Miocárdio, realizada com o auxílio da Circulação Extracorpórea, está associada a alterações importantes na microcirculação e na produção e circulação de citocinas e marcadores inflamatórios. No presente estudo, foram avaliados 23 pacientes com indicação de Revascularização do Miocárdio, no dia do procedimento e 7 e 28 dias após a cirurgia. A microcirculação cutânea, enquanto reflexo da microcirculação coronariana, foi estudada através da hiperemia térmica e/ ou reativa pós oclusiva e da iontoforese de substâncias vasoativas por mecanismos dependentes e independentes do endotélio. A rigidez arterial foi aferida através da análise da onda de pulso digital. Foi avaliado ainda o impacto da doença e do procedimento cirúrgico sobre a produção e circulação sérica de citocinas e marcadores inflamatórios, tais como: PCR-HS, nitrito/ nitrato, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e G-CSF. Foi observada uma tendência à redução da vasodilatação da microcirculação cutânea após a administração de doses acumulativas de acetilcolina (endotélio dependente) através da iontoforese de 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico. A hiperemia térmica foi mais pronunciada na avaliação basal do que aos 7 e 28 dias. A hiperemia reativa pós oclusiva não demonstrou alterações 7 dias após o procedimento. Aos 28 dias, houve um aumento da condutância microvascular cutânea. Quando avaliada a vasodilatação endotélio-independente (nitroprussiato de sódio), observamos aumento do fluxo microvascular cutâneo diretamente proporcional à carga/ dose aplicada, sem diferenças nos valores obtidos no basal e 7 e 28 dias após o procedimento. A rigidez arterial não apresentou alterações. A análise dos fatores inflamatórios e das citocinas demonstrou aumento marcante da IL-6 e da IL-8 após 7 dias do procedimento cirúrgico, com retorno parcial aos níveis basais da IL-6 e total da IL-8 após 28 dias. O IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e G-CSF apenas apresentaram níveis detectáveis na avaliação basal e IL-7 e IL-10 não demonstraram alterações significativas nos tempos avaliados. A PCR-HS demonstrou níveis mais elevados após 7 dias e retorno parcial aos níveis basais após 28 dias. O nitrito/ nitrato, após 7 dias, apresentou leve queda em sua concentração plasmática. Concluímos que a pequena diferença entre os valores obtidos entre o basal e após 7 dias do procedimento cirúrgico com a iontoforese de acetilcolina resulta em minimização do impacto endotelial e um valor constante deste dado após 28 dias, sugere recomposição fisiológica completa. Este resultado foi semelhante com a análise da hiperemia térmica e reativa pós oclusiva. As interleucinas IL-6 e IL-8, bem como a PCR-HS apresentaram comportamento correlacionável, refletindo a cinética inflamatória. A rigidez arterial não demonstrou alterações.

Palavras-chave: Microcirculação. Cirurgia cardiovascular. Circulação extra-corpórea.





## ABSTRACT

Myocardial Revascularization with cardiopulmonary bypass is associated with important modifications in the microcirculation and in the production and circulation of cytokines and inflammatory markers. In the present study 23 patients were evaluated on the day of the myocardial revascularization (baseline) and 7 and 28 days after the surgical procedure. The skin microcirculation that is in close relationship with coronary microcirculation was evaluated by iontophoresis of vasoactive substances, thermal hyperemia and post occlusive reactive hyperemia. The arterial stiffness was studied by digital pulse wave analysis. Cytokines and inflammatory markers such as C-reactive protein, nitrite/ nitrate, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e G-CSF were also analyzed. A reduction in the skin microvascular vasodilatation was observed after iontophoresis of cumulative doses of acetylcholine (endothelium dependent) 7 and 28 days after the surgical procedure. Skin vasodilation after thermal hyperemia was more important before the surgery than 7 and 28 days after the procedure. The post occlusive reactive hyperemia did not cause vasodilation after 7 days of the surgery. After 28 days, the cutaneous microvascular conductance was higher than before. The iontophoresis of sodium nitroprusside (endothelium independent) showed increasing vasodilation according to the doses/ charge applied but there was no difference among the days of the study. The level of IL-6 and IL-8 increased after 7 days and the level of IL-8 returned to baseline after 28 days. IL-6 showed a reduction after 28 days but did not reach the baseline. IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e G-CSF were detected only on the day of the surgical procedure and the level of IL-7 and IL-10 was similar before, 7 days and 28 days after the surgery. Nitrite/ nitrate was reduced after 7 days of the surgical procedure. In conclusion we observed that the small difference between endothelium dependent vasodilation 7 days after the surgical procedure showed a reduction in the alterations caused by the extracorporeal circulation and the constant level of vasodilation after 28 days showed the complete recovery of the endothelium. This result was in accordance with thermal hyperemia and post occlusive reactive hyperemia. The kinetics of IL-6, IL-8 C-reactive protein were similar. The arterial stiffness did not show any difference.

Key words: Microcirculation. Cardiovascular Surgery. Extracorporeal circulation. Cardiopulmonary bypass.

# SUMÁRIO

Introdução	12
1 Revisão da literatura	14
2. OBJETIVOS	37
3 MATERIAL E MÉTODOS	38
4 RESULTADOS	44
5 Discussão	75
6 Conclusões	85
Referências	87

## INTRODUÇÃO

O uso da circulação extracorpórea (CEC) para suporte circulatório durante procedimentos de cirurgia cardiovascular surgiu em 1953, e mudou radicalmente o cenário da cirurgia cardíaca. Com auxílio desta técnica, se tornou possível a realização de cirurgias de revascularização do miocárdio em parada cardíaca, bem como a abertura do órgão para a correção de patologias intracardíacas.

Durante a CEC, o sangue do paciente é drenado de forma ativa ou passiva para um reservatório e posteriormente é bombeado para um oxigenador, que vai promover as trocas gasosas, eliminando o gás carbônico e aumentando a concentração de oxigênio. O sangue oxigenado é novamente bombeado para o paciente e retorna à circulação sistêmica na aorta ascendente, excluindo-se assim, os pulmões e o coração.

Durante a CEC, o sangue entra em contato com superfícies não endoteliais (tubos de silicone e material plástico), o que acarreta a liberação de várias substâncias, bem como a ativação de mecanismos de defesa e coagulação. O trauma cirúrgico e a CEC desencadeiam um processo inflamatório sistêmico, com ativação das cascatas da coagulação, fibrinolítica, sistema caliceína e complemento. Isto acarreta alterações clínicas na função ventricular, pulmonar e renal, além de distúrbios da coagulação, com formação de microêmbolos e aumento da suscetibilidade a infecções.

No início da década de 70, vários autores demonstraram preocupação com as alterações fisiológicas causadas pela CEC e iniciaram a realização da cirurgia para revascularização do miocárdio sem CEC, especialmente das artérias coronárias direita e descendente anterior. Apesar do otimismo dos cirurgiões em relação à cirurgia sem CEC, sabia-se que seria necessária a obtenção de dados que comprovassem a eficácia da nova técnica. O movimento rítmico do coração durante a cirurgia sem CEC dificultava a realização das anastomoses nos vasos e, dependendo do vaso abordado, a mobilização do coração poderia causar instabilidade hemodinâmica. Em consequência, a técnica deixou de ser amplamente utilizada.

Na década de 90, com os crescentes avanços das técnicas para a realização da CEC e na preservação do miocárdio, houve um novo interesse nas cirurgias sem

CEC. Porém, observou-se que o número de vasos abordáveis durante o procedimento cirúrgico era maior nos pacientes que utilizavam a CEC e que os resultados a longo prazo das cirurgias com CEC eram superiores, bem como o número dos vasos abordados durante o procedimento cirúrgico.

A indicação para a realização de cirurgia sem CEC ficou, então, restrita aos pacientes que apresentavam alguma contra-indicação à CEC, como presença de aterosclerose grave na aorta ascendente e/ ou acidente vascular encefálico recente.

## 1 REVISÃO DA LITERATURA

### 1.1 Endotélio

Desde que o endotélio vascular foi descrito por avaliação microscópica, sempre foi considerado uma barreira protetora contra o desenvolvimento de coagulação intravascular disseminada. Há alguns anos, tem sido descrito como um importante mecanismo de regulação do fluxo sanguíneo, mantendo a homeostase tecidual. Apesar de ser constituído por camada única de células, ele cobre toda superfície interna do sistema vascular e seu peso total é superior ao do fígado, por exemplo. Se as células fossem estendidas, seria possível cobrir uma quadra de tênis. Alguns autores consideram o endotélio a maior e mais importante glândula do organismo.(1)

As células endoteliais, ao contrário do que muitos imaginam, são heterogêneas, de acordo com o vaso e a localização deste, e são altamente ativas do ponto de vista metabólico. No citoplasma, são encontradas proteínas contráteis, tais como a actina, miosina, tropomiosina, as quais apresentam importância fundamental na execução das suas funções (2). O sistema de junção celular associada aos filamentos da actina, conhecido por FAU, pode ser encontrado no espaço intercelular e sua contração e relaxamento controlam a passagem de solutos e macromoléculas entre o sangue e o espaço subendotelial. O sistema FAU é formado por moléculas de adesão intercelular, especialmente a VE-caderina. Tanto a adenosina monofosfato cíclica (cAMP), sintetizada a partir da ação da adenilato ciclase, quanto a guanina monofosfato cíclica (cGMP), sintetizada pela guanilato ciclase  $\text{Ca}^{+2}$ -óxido nítrico são mensageiros para estabilização do sistema FAU, impedindo a separação intercelular, que é dependente de Calmodulina- $\text{Ca}^{+2}$ -dependente. Citocinas pró-inflamatórias, espécies ativas de oxigênio, trombina, fatores ativadores de plaquetas, aumento da concentração de cálcio durante processos de isquemia e redução de ATP aumentam a permeabilidade da FAU e, conseqüentemente, a passagem de substâncias e moléculas através do endotélio.

Fibras de estresse são compostas por filamentos de actina e miosina em uma conformação semelhante à encontrada no músculo estriado esquelético e atravessam o citoplasma em todas as direções. Estas fibras são abundantes no

endotélio dos vasos que suportam grandes pressões, e sua contração e relaxamento são mediados por  $\text{Ca}^{+2}$  intracelular e por ATP. Sua principal função é adaptar a forma das células às forças mecânicas impostas pela pressão sanguínea e, com isto, minimizar as lesões celulares. Estas modificações morfológicas são especialmente importantes nos capilares, que podem modificar o fluxo ou até mesmo pará-lo, sob efeito de algumas substâncias, tais como serotonina, histamina, noradrenalina e trombina. O fluxo sanguíneo através dos capilares ocorre pela deformação das células sanguíneas e do endotélio, bem como pelas cargas eletrostáticas que as células possuem. O glicocálix das células endoteliais é rico em ácido siálico, o qual confere carga negativa às mesmas. Esta característica faz com que as células endoteliais “empurrem” as demais células sanguíneas, sendo fundamental na composição da força do cisalhamento (*shear stress*), além de inibir a ativação do fator VII da coagulação (via extrínseca) (2).

A membrana celular é formada por invaginações e protusões, que são ricas em lipídios, esfingomielina, estruturas protéicas complexas e múltiplos receptores. Estas estruturas são chamadas de cavéolas. Estima-se que estas representem 5 a 10% da membrana celular e sejam áreas efetoras-receptoras (3). Em circunstâncias fisiológicas, existem basicamente três formas de transporte de moléculas plasmáticas através da barreira endotelial, a saber: 1) uniões intercelulares, que atuam como filtros, controlados pela pressão hidrostática e permitem a passagem de água e substâncias dissolvidas; 2) vesículas formadas a partir das cavéolas, que facilitam a passagem de macromoléculas através da membrana celular para o citoplasma e 3) canais transcelulares verdadeiros, formados por várias cavéolas, que conectam lados opostos da membrana. Através destes mecanismos, o endotélio regula a passagem de macromoléculas e fluidos entre os compartimentos celular e vascular.

A célula endotelial está sujeita a ação de vários estímulos químicos e físicos, que ocorrem dentro dos vasos, modificando a sua forma ou produzindo substâncias para balancear os efeitos. Estas podem ser vasodilatadoras, vasoconstrictoras, pró-coagulantes, anti-coagulantes, pró-inflamatórias, anti-inflamatórias, fibrinolíticas e anti-fibrinolíticas, oxidantes e anti-oxidantes (1, 4). Quando o endotélio perde a capacidade de ajuste, fica sujeito à formação das estrias gordurosas, o primeiro passo na formação da placa aterosclerótica.

## 1.2 Óxido nítrico

O óxido nítrico é um gás lipofílico, com baixo peso molecular, que está presente em praticamente todos os tecidos do organismo. Este gás é produzido pelo metabolismo da L-arginina pela ação da NO sintase endotelial (eNOS), que está presente nas células endoteliais. Em condições fisiológicas, o estímulo à célula endotelial induz a produção e a liberação do óxido nítrico (NO). Este atravessa a túnica íntima do vaso e ao atingir a camada muscular, causa a nitrosilação do grupamento HEME da guanilato ciclase, transformando o GTP em cGMP. Este, por sua vez, regula a concentração do cálcio na célula, causando o relaxamento da fibra muscular lisa e conseqüentemente, vasodilatação (5). O NO dificulta ainda a adesão e agregação plaquetárias, bem como a expressão de moléculas de adesão no endotélio (6).

Em condições patológicas e na presença de fatores de risco para doenças cardiovasculares, o endotélio pode perder este papel protetor, após mudanças estruturais e funcionais, podendo contribuir para o desenvolvimento da aterosclerose. Ocorre uma redução na biodisponibilidade do NO, por redução na sua produção pela eNOS ou por aumento da sua degradação pelas espécies ativas de oxigênio (6).

No momento em que o endotélio perde suas funções protetoras e se torna não funcionante, ocorre aumento de algumas substâncias que causam vasoconstrição como endotelina-1, tromboxano A<sub>2</sub>, prostaglandina H<sub>2</sub> e espécies reativas de oxigênio (6). Estas substâncias apresentam papel importante na fisiopatologia da aterosclerose (6, 7).

## 1.3 Papel do estresse de cisalhamento

O estresse de cisalhamento é o estímulo mais importante para a liberação do NO. Este ocorre pelo aumento da velocidade do sangue em contato com a parede dos vasos e a produção de NO é proporcional ao estímulo (8). A membrana celular das células endoteliais possui canais iônicos especializados, como canais de potássio ativados por cálcio, que abrem em resposta ao aumento do estresse de

cisalhamento (9). Este efeito causa a hiperpolarização celular, aumentando a entrada do cálcio e ativando a enzima NOS III, com conseqüente produção de NO (9). Esta vasodilatação é constante ao estímulo produzido (10). Os medicamentos da classe dos nitratos são doadores de NO, causando a liberação de cGMP na célula muscular lisa e conseqüentemente, vasodilatação independente do endotélio.

O estresse de cisalhamento explica a importância do fator hemodinâmico na localização, formação e na fissura da placa aterosclerótica. Esta se desenvolve normalmente nos locais onde o estresse de cisalhamento é baixo ( $< 6 \text{ din/cm}^2$ ), onde a produção do NO está diminuída e a concentração das moléculas de adesão está aumentada. Por outro lado, um estresse de cisalhamento muito elevado ( $> 70 \text{ din/cm}^2$ ) pode causar erosão endotelial e agregação plaquetária, ou causar ruptura da placa aterosclerótica. Portanto, um estresse de cisalhamento baixo causa a formação e a progressão da placa e um estresse de cisalhamento elevado causa o dano da mesma (11-14).

O NO, além de ser importante vasodilatador, reduz a permeabilidade vascular e a síntese de moléculas de adesão pelos linfócitos e monócitos, reduz a adesão plaquetária, oxidação e inflamação tecidual, ativação dos fatores trombogênicos, crescimento celular, proliferação e migração, inibe a expressão de citocinas pró-inflamatórias e pró-aterogênicas e favorece a fibrinólise (15-21).

#### **1.4 Endotélio e Sistema-Renina Angiotensina**

O sistema renina-angiotensina é formado por uma cascata de reações que culminam na produção de Angiotensina II (AII). A renina, produzida pelos rins, atua no angiotensinogênio, produzido pelo fígado, transformando-o em Angiotensina I (AI) que, por sua vez, é transformada em AII por ação da enzima conversora de angiotensina (ECA) nos pulmões.

A AII estimula dois subtipos de receptores, conhecidos como AT1 e AT2. Os receptores AT1 são responsáveis pela maioria dos efeitos conhecidos da AII, tais como vasoconstrição, aumento da atividade da aldosterona, hipertrofia miocárdica, proliferação das células musculares lisas, reabsorção do sódio renal, aumento da atividade noradrenérgica periférica, liberação da vasopressina, estímulo simpático e redução no fluxo renal. A AII possui ainda efeitos anti fibrinolíticos e oxidantes e



estimula a expressão das moléculas de adesão para fixação de leucócitos a células endoteliais, além de aumentar a produção dos fatores de crescimento. Esta ainda converte a endotelina em endotelina I, a substância vasoconstrictora mais potente na parede dos vasos (22-24).

Os efeitos nos receptores AT2 não foram totalmente elucidados, mas acredita-se que eles sejam responsáveis por mecanismos de apoptose, inibição da proliferação, estimulação da angiogênese e vasodilatação (25). Os receptores AT2 são encontrados no feto nos últimos três meses de gravidez e durante as primeiras três semanas de vida. Nos adultos, são predominantemente encontrados no cérebro, nas adrenais e nos locais onde tenha havido lesão vascular (26).

Fatores de risco para doenças cardiovasculares, tais como hipercolesterolemia, hipertensão arterial sistêmica, tabagismo, sedentarismo, diabetes, hiperhomocisteinemia, lipoproteína A (LP(a)) elevada e infecções por *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pilory*, citomegalovírus e herpes zoster apresentam em comum um estado de estresse oxidativo que, diretamente ou através de proteínas de choque térmico, estimulam a ativação e subsequente translocação nuclear do NF- $\kappa$ B. Este fator de transcrição ativa a transcrição de citocinas pró-aterogênicas, como TNF- $\alpha$ , interleucinas I e 6, moléculas de adesão que, em conjunto, ocasionam a inibição da NOS III. Desta forma, a produção do NO é reduzida, favorecendo a síntese e a atividade da AII (27-31).

A via do ácido araquidônico, cujo produto final são as prostaciclina, promove a liberação do cAMP do ATP, reduzindo a concentração do  $Ca^{+2}$  no citoplasma das células e, conseqüentemente, causando a vasodilatação.

O fator hiperpolarizante derivado do endotélio também produz vasodilatação, aumentando a concentração de  $K^{+}$  intracelular, através da Citocromo P450 e do Peptídeo C natriurético. Acredita-se que alguns inibidores da ECA estimulem o fator hiperpolarizante derivado do endotélio, o que explicaria alguns efeitos produzidos por esta classe de medicamentos, que não são explicadas apenas pela inibição da ECA em si.

### **1.5 Aterosclerose e espécies reativas de oxigênio**

Espécies reativas de oxigênio, (ROS) tais como ânion superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical hidroxila (OH), ácido hipocloroso (HOCl) e radicais lipídicos, são radicais livres altamente reativos com outras moléculas biológicas, produzidos através do metabolismo aeróbico da redução do oxigênio molecular (26). Em situações fisiológicas, estas moléculas são neutralizadas por um eficiente sistema de substâncias antioxidantes, tais como superóxido dismutase, glutathione peroxidase e catalase, transformando-as em água e oxigênio. Estão presentes no organismo alguns antioxidantes não enzimáticos, como as vitaminas E, C e  $\beta$  caroteno (32). Em estados patológicos, as espécies ativas de oxigênio podem estar em excesso, causando um estado de estresse oxidativo localizado.

As moléculas nativas de LDL não são nocivas ao organismo e, portanto, não são capazes de causar *per se* reação inflamatória. Estas, no entanto, são facilmente oxidadas (LDL-Ox). Quando oxidadas, passam a apresentar importante imunogenicidade, atacando as células endoteliais na túnica íntima dos vasos (33), aumentando a expressão das moléculas de adesão, das metaloproteinases de matriz e dos fatores quimiotáticos para monócitos (34), acarretando agregação plaquetária e trombose (35).

As moléculas de LDL-Ox são encontradas nas camadas subendoteliais e ativam os monócitos, transformando-os em macrófagos e aumentando o número dos receptores “scavengers” e do tipo Toll (*Toll-like receptors*). Estes macrófagos ativados podem fagocitar as moléculas de LDL-Ox, transformando-se em células espumosas (foam cells), que são os principais componentes das “estrias gordurosas”, o primeiro passo na formação da placa ateromatosa. Por sua vez, as estrias gordurosas causam reação imunogênica nos linfócitos T, que iniciam ou aumentam a resposta imunológica (36). Esta reação inflamatória induz à produção de TNF- $\alpha$ , o que induz a apoptose das células endoteliais e subsequente estado pró-trombótico, relacionado à gravidade das síndromes coronarianas agudas (37, 38).

A partícula HDL do colesterol e a apolipoproteína A-1 possuem efeitos anti-aterogênicos. Estas apresentam efeitos antioxidantes atribuídos à ligação de metais de transição e à presença das paraoxonases, enzimas presentes especialmente nas apolipoproteínas A-1 e J. Estas moléculas apresentam efeitos anti-inflamatórios, anti-trombóticos e pró-fibrinolíticos, e podem seqüestrar fosfolipídios tóxicos,

estimulando o transporte reverso do colesterol e, com isto, reduzir a disfunção endotelial (39).

### 1.6 Sistema imunológico e trombose

Existe uma relação direta entre trombose e inflamação. Citocinas inflamatórias estimulam a expressão de moléculas pró-coagulantes no endotélio, como o fator de Von Willebrand e os fatores inibidores da ativação do plasminogênio tecidual (PAI-1 e PAI-2). Células inflamatórias ativadas também produzem moléculas que contribuem para a trombogênese, como o Fator Tecidual e trombina. Esta promove intenso estímulo mitogênico e ativação plaquetária (40-42). A interleucina 6 (IL-6) aumenta a concentração plasmática da proteína C reativa (PCR), fibrinogênio, PAI-1 e proteína amilóide A. A PCR amplifica a resposta imunológica, induzindo a expressão de moléculas de adesão leucocitária e a produção de citocinas pelas células endoteliais e apresenta efeito sinérgico com os polissacarídeos das membranas bacterianas (43). Interleucina 1 (IL-1) promove a síntese de PAI-1 nas células endoteliais enquanto a interleucina 4 (IL-4) promove a síntese de ativador de plasminogênio tecidual (t-PA) pelos monócitos.

A aterosclerose está relacionada à ativação do sistema imunológico (44). A placa aterosclerótica, em desenvolvimento, está infiltrada não só por macrófagos, mas também por linfócitos T CD4+ e linfócitos T CD-8+, que sugerem uma resposta imunológica específica.

Linfócitos T CD-4+ Th1 produzem TNF- $\alpha$ , interferon- $\gamma$  e IL-6, que são compostos pró inflamatórios, capazes de ativar macrófagos e responsáveis por reações de hipersensibilidade. Por outro lado, os linfócitos T CD-4+ Th2 produzem IL-4, IL-5, IL-10 e IL-3, que promovem respostas por anticorpos e inibem a reatividade dos macrófagos (45).

Na placa aterosclerótica de animais de laboratório e em humanos, citocinas inflamatórias produzidas por linfócitos T CD-4+ Th1, como interferon- $\gamma$  e IL-12 são encontradas ao redor da lesão, como ocorre na artrite reumatóide. Este fato reforça a hipótese de que um equilíbrio entre os linfócitos T CD-4+ Th1 e Th2 pode modular

a progressão ou a regressão da placa. Neste sentido, as estatinas, que possuem atividade anti-inflamatória associada à redução dos níveis séricos de colesterol poderiam apresentar papel importante na modulação da atividade imunológica (46-48).

Esfingomielinase é um mediador imunológico produzido por macrófagos e células endoteliais, quando estimulados por citocinas inflamatórias. Esta enzima apresenta papel importante na passagem de lipoproteínas oxidadas através do endotélio, para formação das células espumosas e para a formação, progressão e complicação da placa aterosclerótica (49, 50).

Os pacientes portadores de diabetes tipo 1 ou tipo 2 estão sob um intenso estado de estresse oxidativo e, portanto, apresentam risco elevado de desenvolvimento de doença coronariana, acidente vascular encefálico e arteriopatia periférica. A hiperglicemia causa glicosilação das proteínas e fosfolipídios, elevando o estresse oxidativo intracelular, com aumento da produção de espécies ativas de oxigênio.

Os macrófagos apresentam receptores especiais para os produtos avançados da glicosilação. Esta ativação leva à oxidação das lipoproteínas, especialmente dos fosfolipídios do LDL e estimula uma resposta inflamatória e trombogênica, através do tromboxano A<sub>2</sub>. Pacientes diabéticos apresentam níveis elevados de marcadores da inflamação, incluindo a proteína C reativa.

Existe uma correlação marcante entre alterações no metabolismo da glicose e doença arterial coronariana. O surgimento de aterosclerose em grandes vasos precede o surgimento do diabetes, sugerindo que estas duas patologias possuam os mesmos antecedentes ambientais e genéticos (51). A disfunção endotelial antecede outras evidências de doença vascular e a progressão da síndrome metabólica para diabetes tipo 2 ocorre simultaneamente com a progressão da disfunção endotelial a aterosclerose.

### **1.7 Disfunção endotelial e síndrome isquêmica aguda**

Em um subgrupo do estudo Framingham, 5.209 pacientes foram acompanhados por 10 anos e observou-se que aqueles que apresentavam doença vascular periférica, possuíam uma probabilidade maior de desenvolver infarto agudo

do miocárdio ou acidente vascular encefálico. Portanto, postulou-se que a aterosclerose é uma patologia sistêmica (48, 52).

Ao mesmo tempo, as lesões ateroscleróticas podem ser encontradas em diferentes estágios de desenvolvimento no mesmo local e em outras partes do organismo. Portanto, aterosclerose é uma patologia heterogênea e multiforme (48).

Nos estágios avançados de aterosclerose como o IV e Va da Associação Americana de Cardiologia (AHA) ou lesão tipo III de Ross, dois tipos de lesão podem ser distinguidas, a saber: 1) placa fibrosa ou estável, com núcleo lipídico central e pequeno, protegido por capa resistente e espessa de colágeno e sem sinais de inflamação. Estas lesões obstruem os vasos e são facilmente detectáveis por arteriografia; 2) placa vulnerável, instável e de alto risco, com grande núcleo lipídico excêntrico, coberto por fina capa de tecido fibroso com pouca concentração de colágeno e grande quantidade de macrófagos e linfócitos T. Esta apresenta intensa reação inflamatória e raramente causa obstrução progressiva nos vasos. Por outro lado, este tipo de placa está mais susceptível à ruptura e é responsável pela maioria dos eventos coronarianos agudos. Frequentemente, estas lesões não são visualizadas pelas arteriografias. Logo, postulou-se que a qualidade da placa é mais importante que o seu tamanho (48, 53-58).

### **1.8 Avaliação da função endotelial**

A avaliação da função endotelial pode ser feita de várias maneiras, como pela dosagem de algumas substâncias no sangue periférico, como moléculas de adesão, substâncias pró-aterogênicas, anti-fibrinolíticas e dos marcadores séricos da inflamação, além de métodos funcionais invasivos e não invasivos.

Os primeiros experimentos para avaliação da vasodilatação dependente do endotélio utilizavam técnicas invasivas, através da cateterização das artérias coronárias. Nestes, eram infundidas drogas como a acetilcolina, metacolina, papaverina e substância P e avaliava-se o grau de dilatação dos vasos (59). Observou-se que a injeção de acetilcolina nas artérias coronárias normais promovia vasodilatação dependente de endotélio e que injeções da mesma substância em coronárias com lesões ateroscleróticas moderadas a graves, promoviam vasoconstrição paradoxal, indicando que a disfunção endotelial estava presente

(59). Esta vasoconstrição ocorre pelo estímulo dos receptores muscarínicos das células musculares lisas vasculares por ação direta da acetilcolina. Em outro estudo, observou-se que, após a injeção de acetilcolina, o grau de dilatação coronariana era inversamente proporcional à concentração do colesterol total e do LDL (60). Observou-se ainda que a presença de fatores de risco para doenças cardiovasculares causou uma relação linear inversa à resposta vasodilatadora dependente do endotélio, evidenciando que os mesmos causam disfunção endotelial (60).

Outra técnica que pode ser utilizada é a pletismografia de oclusão venosa. Esta técnica permite a mensuração de alterações do fluxo sanguíneo muscular do antebraço em resposta a manobras fisiológicas ou farmacológicas, representando uma avaliação funcional dos vasos de resistência (macro e microcirculação) (61). Além de constituir uma técnica não-invasiva, apresenta baixo custo na aquisição do equipamento para sua realização. Estudos com pacientes hipertensos observaram que estes apresentavam uma menor resposta às substâncias vasodilatadoras e, portanto, uma maior resistência vascular, quando comparados aos normotensos. Como o endotélio mantém um nível de vasodilatação constante causado pela produção de NO, concluiu-se que os pacientes hipertensos apresentavam uma menor concentração do NO secundária à disfunção endotelial. Isto levou à hipótese de que esta disfunção endotelial poderia ser uma das causas de hipertensão arterial sistêmica. Posteriormente, outros estudos concluíram que a disfunção endotelial era provavelmente uma consequência e não a causa da hipertensão (60, 62-64).

Em 1992, Celermajer et al. (65) estudaram a vasodilatação periférica por ultra-sonografia de alta resolução. Esta técnica consistia na isquemia do antebraço com o auxílio de um manguito de esfigmomanômetro por cinco minutos e posterior avaliação da vasodilatação após o restabelecimento do fluxo sanguíneo. Após a liberação da pressão no manguito, ocorre um aumento do fluxo sanguíneo no antebraço o que aumenta o estresse de cisalhamento, resultando em vasodilatação, diretamente proporcional à concentração de NO liberado pelo endotélio. O aumento no fluxo sanguíneo que ocorre na vasodilatação foi avaliado por ultra-sonografia de alta resolução da artéria braquial e expresso em porcentagem de aumento do diâmetro basal da artéria (66, 67). Esta avaliação pode ser feita ainda nas artérias radial e femoral (65, 67).

A vasodilatação pós oclusão avalia principalmente os vasos de condutância ao contrário da pletismografia, que avalia os vasos de resistência. Porém, ambas as técnicas estudam a liberação do NO.

A técnica da vasodilatação pós oclusão demonstra uma redução gradual na vasodilatação dependente do endotélio com o envelhecimento, devido à redução da síntese de NO pelas células endoteliais (68, 69). Esta resposta reduzida também pode ser encontrada em pacientes portadores de lesões ateroscleróticas, sintomáticos ou assintomáticos (70, 71), mulheres após a menopausa pela falta de estrogênio (72, 73) e em pacientes portadores de fatores de risco para doenças cardiovasculares, tais como hipercolesterolemia (74), hipertensão, tabagismo ativo (75, 76), tabagismo passivo (77), obesidade (78), diabetes (79), sedentarismo (80) e hiperhomocisteinemia (81). Infecções leves (82) e elevações progressivas da PCR, podem reduzir a resposta do endotélio (83). O controle dos fatores de risco para as doenças cardiovasculares, tais como redução do nível sérico do colesterol, o controle da pressão arterial (84), perda ponderal (78), controle glicêmico mais estrito (85), atividade física regular (86) e eliminação do tabagismo (67) melhoram a resposta da função endotelial através da liberação de quantidades mais elevadas de NO (84, 87-89).

Os fatores de risco para doença coronariana causam estresse oxidativo, o que aumenta a produção das espécies ativas de oxigênio (90, 91). A administração de anti oxidantes, como as vitaminas C e E, diminui a produção das espécies ativas de oxigênio (92, 93). A administração da L-arginina, um precursor do NO, aumenta a vasodilatação dos pacientes portadores de altos níveis de colesterol, doença arterial coronariana e falência cardíaca (94-96).

## **1.9 Avaliação da Microcirculação**

### **1.9.1 Microscopia Intravital**

Originalmente esta técnica apenas podia ser utilizada em tecidos que permitem a transiluminação, como a asa do morcego ou o mesentério após exteriorização da cavidade abdominal (97). Foram descritas técnicas que utilizam corantes fluoresceinados, porém seu uso não foi autorizado em pesquisas com

seres humanos (98). O uso da microscopia intravital em seres humanos está restrito à avaliação dos capilares na pele (99, 100) e do leito ungueal e tubo gastrointestinal (98). Outra técnica de visualização da microcirculação utilizada em humanos é a técnica de imagem espectral por polarização ortogonal (OPS). Esta utiliza a reflexão da luz polarizada e o contraste é obtido pela absorção da luz pela hemoglobina (101). Esta pode obter imagens de transiluminação com qualidade na superfície de órgãos sólidos e em profundidades de até 300 mm (102). A transiluminação pode fornecer parâmetros, como os diâmetros das vênulas e capilares, além da velocidade das hemácias nas vênulas.

### 1.9.2 Isolamento de artérias

O estudo de artérias de resistência isoladas requer uma amostra de tecido e, normalmente, é realizado em animais de laboratório. Contribuiu para a descrição da fisiologia e fisiopatologia de muitos fenômenos vasculares, incluindo suas propriedades contráteis. A maior limitação desta técnica é que dados obtidos *ex vivo* têm que ser extrapolados para a prática clínica (103).

### 1.9.3 Fluxometria laser-Doppler

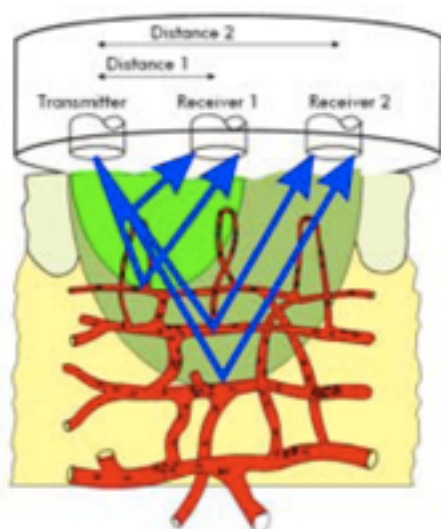
A técnica de fluxometria por laser-Doppler é uma técnica sensível, não invasiva e de simples realização, usada para a monitorização da microcirculação cutânea, padronizada e validada recentemente em diferentes estudos clínicos (104, 105).

Este método baseia-se no efeito Doppler, que registra a reflexão de um feixe de raios laser, monocromático, de baixa energia, que penetra na pele aproximadamente 1,5 mm de profundidade. O feixe é refletido pelas hemácias em movimento na microcirculação, sofrendo ao mesmo tempo uma modificação do seu comprimento de onda (*Doppler shift*), sendo então captado por um sensor e posteriormente analisado (Figura 1.1). De acordo com o princípio Doppler, ocorre uma mudança de frequência, gerando um sinal correlacionado de maneira linear com o fluxo de hemácias, sendo esse sinal semi-quantitativo e expresso em



unidades de perfusão de voltagem de saída (1 UP = 10 mV), de acordo com o consenso europeu (*European Laser Doppler Users Groups, London 1992*).

A técnica de fluxometria por laser-Doppler acoplada à micro-iontoforese (Figura 1.1) fornece a vantagem de avaliar, de forma não invasiva, estímulos farmacológicos no endotélio, através da administração transdérmica de pequenas quantidades de substâncias vasoativas acompanhada de pequenas correntes elétricas. O princípio que rege esta técnica está no fato de moléculas da droga em solução se encontrarem carregadas positivamente ou negativamente, migrando através da pele sob a influência de uma corrente monopolar aplicada (106). A taxa de liberação e a quantidade da substância que é liberada dependem da magnitude da corrente aplicada e sua duração, segundo a fórmula: corrente (Ampéres) x tempo (segundos) = carga (Coulombs).



**Figura 1.1.** Esquema representativo do mecanismo de avaliação da microcirculação cutânea por fluxometria laser Doppler associada à microiontoforese.

Comparativamente às técnicas de ultra-som, a fluxometria laser-Doppler tem, como principais vantagens, o fato de ser de utilização simples e possibilitar a obtenção de resultados imediatos, além de ser razoavelmente operador-independente (107). No entanto, a variabilidade inter e intra-indivíduo se situa em torno de 20 a 30% (108). Além disso, indica-se avaliação da função endotelial pela utilização simultânea de testes farmacológicos (acetilcolina) e fisiológicos (hiperemias térmica e pós-oclusiva), já que os resultados entre esses diferentes estímulos vasodilatadores podem ser inconsistentes (109).

A avaliação da perfusão tecidual é feita através do aumento de fluxo sanguíneo cutâneo, resultante de manobras, tais como a hiperemia reativa e

aquecimento local. Além disso, existe a possibilidade de administração de vasodilatadores dependentes (acetilcolina) e independentes (nitroprussiato de sódio) do endotélio, através de aparelhos de micro-iontoforese acoplados ao transdutor do laser-Doppler. Esta técnica avalia essencialmente a função endotelial microvascular sistêmica e está indicada para o diagnóstico de disfunção endotelial microvascular, sendo bastante útil na avaliação de intervenções terapêuticas (107).

#### 1.9.4 Tomografia por emissão de pósitrons

A Tomografia por emissão de pósitrons (PET) consiste na desintegração de pósitrons emitidos por um traçador injetado no organismo. Este é um estudo não invasivo e envolve o uso de baixa exposição à radiação. A PET permitiu a investigação de fatores clinicamente relevantes na microcirculação coronariana em seres humanos assintomáticos, como a avaliação do impacto da estenose aórtica no fluxo coronariano subendocárdico e subepicárdico (110).

#### 1.9.5 Ecocardiografia com contraste

Ecocardiografia é um exame complementar não invasivo amplamente utilizado na cardiologia, com ótima resolução temporal (30-120Hz) e espacial (0,1mm). Quando combinada com a injeção de contraste ao ultra-som, pode ser utilizada para investigar a perfusão miocárdica. O contraste de microbolhas possui um gás de elevado peso molecular que permanece estável após a injeção em acessos periféricos até as artérias coronárias. O uso da Ecocardiografia por microbolhas, quando utilizada para avaliar infarto agudo do miocárdio, pode fornecer informações importantes, tais como o tamanho da área infartada, viabilidade miocárdica e a presença de circulação colateral (111).

#### 1.9.6 Ressonância Magnética

A Ressonância Magnética (RNM) possui importante aplicabilidade na avaliação da microcirculação coronariana, especialmente na avaliação da reperfusão após infarto agudo do miocárdio. A RNM avalia o fluxo microvascular, a mobilidade

das regiões do miocárdio, bem como a viabilidade do músculo cardíaco, sem a utilização de contraste ou marcadores radioativos, o que permite múltiplas medidas (112). Os dados obtidos com a RNM são compatíveis com aqueles das técnicas invasivas e PET (113).

Estudos recentes evidenciaram que pacientes que apresentavam risco de desenvolver doenças vasculares, como a doença arterial coronariana, apresentavam alterações na microcirculação cutânea. Portanto, é proposto que a pele seja avaliada como reflexo da microcirculação cardíaca (114).

### **1.10 Circulação Extracorpórea**

Desde a realização do primeiro procedimento cirúrgico com sucesso com a utilização da Circulação Extracorpórea (CEC) em 1953, vários avanços tecnológicos foram descritos, o que possibilitou a redução da mortalidade per e pós-operatória. No entanto, o contato do sangue com o material sintético do circuito da CEC, bem como o contato deste com os tecidos expostos durante o procedimento cirúrgico, causa o desencadeamento de uma importante reação inflamatória, que envolve componentes celulares e humorais (115). Esta reação inflamatória inicia um importante estímulo trombótico e a produção, circulação e liberação de micro êmbolos, substâncias citotóxicas e vasoativas, que alteram a função de alguns órgãos e tecidos. Alguns pacientes desenvolvem quadro inflamatório grave, configurando a Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS). Esta, quando exacerbada, pode causar a Síndrome da Disfunção Múltipla dos Órgãos (116), que aumenta significativamente a permanência destes pacientes em ventilação mecânica e também a mortalidade (117).

Os fatores que influenciam a incidência, a gravidade e o desfecho clínico da resposta inflamatória, e em particular os motivos pelos quais certos pacientes desenvolvem graves complicações peri-operatórias em função da resposta inflamatória exacerbada, ainda permanecem pouco compreendidas. Alguns fatores tais como a área da superfície do circuito de perfusão, o tempo de contato do sangue com as superfícies extravasculares, a quantidade de volume aspirado pelos aspiradores do campo operatório, o estado de saúde do paciente antes do procedimento, perda e reposição sanguínea, lesões de isquemia e reperfusão nos

órgãos, sepse, diferentes graus de hipotermia, período de parada circulatória, perfil genético e uso de corticóides ou outros agentes farmacológicos podem influenciar no grau de resposta inflamatória.

A bomba e o oxigenador funcionam de maneira não fisiológica, com níveis de pressão e composição dos gases diferentes do padrão fisiológico. Ocorre hemodiluição significativa e desnaturação de várias proteínas plasmáticas (118, 119). O sangue é exposto a superfícies não endoteliais e estresse de cisalhamento anormal, ativando elementos sanguíneos que produzem várias substâncias vasoativas, alterando a permeabilidade capilar e causando hemólise (120).

Neste sentido, a CEC pode disparar a resposta inflamatória especificamente por, pelo menos, três mecanismos distintos. Um está diretamente relacionado à “ativação por contato” do sistema imune após a exposição dos componentes sanguíneos às superfícies sintéticas dos circuitos da CEC. Um segundo mecanismo envolve a lesão de isquemia e reperfusão a órgãos alvo, principalmente cérebro, coração, pulmão, rins e fígado (116), relacionado ao clampeamento aórtico e a sua liberação. Este fenômeno é considerado como evento chave na amplificação da resposta inflamatória “pós-CEC” (121, 122). O terceiro mecanismo relacionado à ativação da cascata inflamatória é a endotoxemia. A hipoperfusão esplâncnica, um achado relativamente comum durante e após a CEC (123), pode lesar a barreira mucosa, permitindo a translocação de endotoxinas (124, 125), as quais estão diretamente relacionada ao grau de disfunção cardiovascular pós-CEC (126, 127).

#### 1.10.1 Resposta Inflamatória na CEC

No sangue circulante durante a CEC podem ser encontradas várias substâncias vasoativas e citotóxicas, células sanguíneas ativadas e microêmbolos. Estresse de cisalhamento, turbulência e proteínas do complemento, tais como o fator C5b-9 causam hemólise das células sanguíneas. Anafilatoxinas do complemento, bradicinina formada pela ativação das proteínas de contato (128) e citocinas pró-inflamatórias estimulam a contração das células endoteliais, permitindo o extravasamento do fluido intravascular para o espaço extravascular (120). Substâncias vasoativas circulantes causam vasodilatação ou vasoconstrição de redes regionais vasculares heterogêneas (129). Como neutrófilos e monócitos

migram através da barreira das células endoteliais, células parenquimais e estromais são expostas ao ambiente citotóxico mediado por proteases, collagenases, peróxidos, C5b-9 e outras citocinas (130-133). Esta lesão é potencializada pelos microêmbolos formados por agregados de leucócitos e plaquetas, lipídios e outros elementos sanguíneos. A manifestação da resposta inflamatória inclui sintomas sistêmicos como mal estar, febre, taquicardia, hipotensão (134), acúmulo de fluido intersticial (119) e disfunção temporária dos órgãos, particularmente do cérebro, coração, pulmões e rins.

### 1.10.2 Citocinas

A concentração das citocinas tanto anti- quanto pró-inflamatórias aumenta durante e após a cirurgia cardiovascular e o pico destas está compreendido entre 12 e 24 h após a CEC (135-140). As concentrações das citocinas são diferentes em vários estudos devido às diferenças na duração da CEC, temperatura da perfusão (134), equipamentos de perfusão, tempo de clampeamento aórtico, métodos de proteção miocárdica (141-143) e fatores exógenos como anestesia e soluções intravenosas (135-140). Fatores individuais dos pacientes, tais como idade, função do ventrículo esquerdo e fatores genéticos, também podem influenciar a concentração das citocinas (144).

Foi demonstrado que logo após o início do procedimento, ocorre importante aumento da concentração sérica de IL-10, chegando até mesmo a 50 vezes o valor basal. Após dois dias, a concentração cai, retornando aos níveis prévios. Tanto a IL-6 quanto a IL-8 apresentaram pico de liberação após 2 h do procedimento com queda após 48 h e retorno aos níveis basais em 21 dias. Porém, o aumento da IL-6 foi de quatro vezes enquanto o aumento da IL-8 foi de seis vezes o nível basal (145). O TNF- $\alpha$  apenas apresentou leve aumento durante o procedimento, com aumento de 30% do nível basal após 2 horas do procedimento. Estes dados demonstraram a importância dos mediadores inflamatórios no pós-operatório imediato e mediato da revascularização do miocárdio.

A resposta inflamatória pode ser dividida em uma fase precoce e outra tardia. Geralmente a fase precoce ocorre pelo contato do sangue com as superfícies não endoteliais e a tardia ocorre pela lesão de isquemia e reperfusão e endotoxemia.

A fase precoce da resposta inflamatória ocorre pelo contato do sangue com as superfícies não endoteliais do circuito da circulação extracorpórea. Em circunstâncias normais, o sangue apenas tem contato com as células endoteliais, que apresentam importante função na manutenção da hemostasia sanguínea. Quando o sangue heparinizado entra em contato com o circuito da CEC, proteínas plasmáticas são adsorvidas pelos tubos do circuito. Algumas proteínas apresentam mudança em sua conformação, expondo receptores para algumas células e substâncias plasmáticas. Isto leva à ativação de sistemas de proteínas plasmáticas, a saber: coagulação, complemento e via fibrinolítica. Algumas células também são ativadas, como células endoteliais, linfócitos, monócitos, neutrófilos e plaquetas (146).

#### a) Coagulação

A ativação da via intrínseca ocorre pelo contato do sangue com as superfícies não endoteliais do circuito ou pelo contato do sangue com o colágeno subendotelial, o que promove a transformação de protrombina em trombina. Esta atua na transformação do fibrinogênio em fibrina, ativação das plaquetas, estimulação das células endoteliais e produção do fator de von Willebrand e, ainda, promove a constrição das células musculares lisas para reduzir a perda sanguínea após a lesão vascular (147, 148). Além disto, apresenta função importante na resposta inflamatória, com estímulo à produção de fatores de crescimento e citocinas que promovem a adesão de neutrófilos e macrófagos e aumento da permeabilidade capilar.

A via extrínseca é iniciada após o trauma na parede dos vasos e é a principal via após lesões. A lesão dos vasos promove a exposição das células não endoteliais ao sangue. O Fator Tecidual, que é uma glicoproteína de membrana presente nestas células é então exposto ao fator VIIa, formando um complexo protéico que, na presença de cálcio e fosfolípidios, promove a conversão do fator X em Xa. Com a formação do fator Xa, as duas vias da coagulação seguem um curso único. Citocinas pró-inflamatórias presentes durante a CEC podem estimular a expressão do Fator Tecidual na superfície dos neutrófilos e monócitos, o que magnifica a resposta inflamatória (149, 150).

Assim, a CEC promove estímulo da cascata da coagulação. Para que não haja coagulação do circuito, é necessário fazer heparinização plena (151). A

heparina potencializa a ação da antitrombina III, causando uma mudança conformacional nesta, inibindo a ligação da trombina, porém sem reprimir a sua produção. A heparina pode causar trombocitopenia por ativação direta das plaquetas (152) e hipercalemia secundária à estimulação da aldosterona (153). A produção constante e progressiva da trombina, localizada principalmente na ferida operatória, produz coagulopatia consumptiva que é responsável por muitas complicações tromboembólicas e hemorrágicas apresentadas por estes pacientes (154, 155).

#### b) Complemento

A ativação do Sistema Complemento é responsável por grande parte das lesões causadas pela CEC. Os componentes C3a, C4a e C5a são anafilatoxinas que aumentam a permeabilidade capilar e alteram o tônus vasomotor, causando hipotensão (129). A ativação do complemento ocorre por três vias: via clássica, mediada por imunocomplexos, via alternativa, ativada por bactérias ou pelo contato com superfícies “nonself” e pela via *mannose-binding lectin* (MBL), que é mediada por lectina plasmática, que se liga a resíduos de manose encontrados em alguns micro organismos (156). Todas as três vias promovem a formação da C3 convertase e, a partir deste ponto, as vias seguem o mesmo caminho, independente do estímulo.

#### c) Fibrinólise

O Sistema Fibrinolítico é responsável pela limitação do processo de coagulação e degradação dos trombos. A produção contínua de fibrina poderia causar trombose generalizada. Portanto, cabe a este sistema a limitação do processo de coagulação nos locais de lesão dos vasos.

O processo de fibrinólise ocorre continuamente durante a CEC, especialmente na ferida operatória (157, 158). Níveis elevados de trombina, fator XIIa e calicreína estimulam a produção de t-PA pelas células endoteliais. A ativação deste sistema pode causar redução da agregabilidade plaquetária, por redução dos receptores Ib e IIb/ IIIa e conseqüentemente hemorragia per e pós operatória (159).

#### d) Componentes celulares

Como mencionado previamente, as células endoteliais apresentam um papel fundamental na hemostasia e são responsáveis pela manutenção da fluidez do sangue, influenciam o tônus vascular, mantêm a integridade do sistema vascular e apresentam ainda papel importante na adesão e na transmigração dos leucócitos

para os tecidos. Estas células estão em contato direto com o sangue, que é o transportador de substâncias inflamatórias, tais como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , trombina, C5a e são capazes de produzir e inativar algumas substâncias (160).

Durante a CEC as células endoteliais produzem uma série de substâncias anticoagulantes e agentes hemostáticos, como antitrombina, heparan sulfato, trombosmodulina, proteína S, t-PA e o inibidor da via de ativação tecidual que, em última análise, inibem a coagulação (161). Estas também vão influenciar o tônus vasomotor através da produção e inativação de uma série de substâncias, tais como óxido nítrico, endotelina 1, histamina, noradrenalina e bradicinina (161).

A IL-1 e o TNF- $\beta$  estimulam a produção e a expressão de moléculas de adesão como E-selectina e P-selectina. Estas se ligam com alta afinidade a receptores ativados dos leucócitos e auxiliam no processo de adesão e “rolling” destes (162). Estas citocinas induzem a expressão de moléculas de adesão intracelular (ICAM) e molécula de adesão celular vascular (VCAM), que se ligam fortemente a neutrófilos e monócitos, facilitando a migração leucocitária através do endotélio para o espaço extravascular, mediando algumas manifestações da resposta inflamatória da CEC (163).

Após a ativação das células endoteliais, estas começam a recrutar neutrófilos do sangue. Inicialmente, os neutrófilos passam por um processo de “rolling” ao longo da camada endotelial pelo aumento da expressão da L-selectina na superfície dos neutrófilos e da E e P-selectinas na superfície das células endoteliais. Estas selectinas promovem ligação fraca entre as células e, para que haja a transmigração para os tecidos, é necessário que ocorra ligações mais fortes. Para tal, os neutrófilos expressam integrinas, a MAC-1, cuja concentração aumenta durante a CEC, e as células endoteliais expressam I-CAM 1, I-CAM 2 e PCAM -1. A interação entre estas moléculas permite que os neutrófilos se liguem fortemente às células endoteliais e que se sofram mudanças em sua conformação, facilitando a sua migração através das células endoteliais em direção ao interstício. Neste, os neutrófilos liberam seus grânulos com substâncias citotóxicas, resultando em aumento da permeabilidade microvascular, edema intersticial, trombose e morte das células teciduais (164, 165).

Os neutrófilos são ativados ainda por componentes do sistema complemento, sistema de contato, como C3a e C5a, calicreína e fator XIIa. Estes são responsáveis por vários mecanismos de defesa e liberam uma série de enzimas citotóxicas dos



grânulos intracelulares, tais como mieloperoxidase, lisozimas, elastase e espécies ativas de oxigênio (166, 167).

Outro tipo celular também ativado durante a CEC são os monócitos. Esta ativação ocorre algumas horas após o evento e se dá por mecanismo de ativação pouco conhecido (168). Estas células produzem IL-1, IL-2, IL-3, IL-6 e IL-8 e, quando estão ligados a plaquetas, formam um conjugado, que apresenta importante papel no processo inflamatório desencadeado pela CEC (149, 150).

A população de linfócitos cai durante a CEC, incluindo as células B, NK, T helper e T supressor. Esta queda permanece durante 3 a 7 dias após a cirurgia e, com isto, ocorre uma piora no processo de fagocitose dos antígenos e inibição da habilidade dos monócitos para apresentação dos mesmos, bem como a síntese de IL-1 (169). Este fato pode corresponder, ao menos em parte, a uma maior suscetibilidade dos pacientes a processos infecciosos (170).

A CEC ativa as plaquetas resultando em uma redução em seu número de até 50%, além de alterar a sua função, contribuindo para a coagulopatia. Além da redução praticamente instantânea do número de plaquetas com a hemodiluição (156), esta redução também ocorre pela destruição mecânica, adesão à superfície do circuito, seqüestro em certos órgãos e coagulopatia consumptiva (171).

A ativação das plaquetas pode ocorrer por vários mecanismos, dentre eles a ferida cirúrgica, dose da heparina, hipotermia e contato direto com o circuito da CEC (172). A trombina é um potente agonista plaquetário. Durante o procedimento, outros fatores promovem a ativação plaquetária, tais como complemento: (C5b-9), leucotrienos, plasmina e collagenases (173). Após a ativação, estas aderem ao fibrinogênio, fator de von Willebrand e fibronectina presentes na superfície do circuito. As plaquetas expressam receptores para glicoproteína IIb/ IIIa, o que permite a adesão entre elas através das pontes de fibrinogênio, e também expressam P-selectina, o que contribui para a formação dos conjugados de neutrófilos e monócitos (174). A expressão da P-selectina estimula os monócitos a expressar o Fator Tecidual, contribuindo para a formação do trombo (175).

As plaquetas são ainda responsáveis pela formação dos microêmbolos, que são fragmentos dos conjugados entre as plaquetas e leucócitos e destas com fibrina. Estes agregados podem estar relacionados a algumas alterações observadas após a CEC, como insuficiência renal (176).

Ao final da CEC a população das plaquetas encontra-se heterogênea e o tempo de sangramento só retorna ao normal após 4 a 12 horas (177, 178). À medida que o tempo de CEC se prolonga, ocorre redução das respostas humoral e celular, já que o material sintético da CEC fica recoberto por proteínas do paciente, tornando o circuito mais “biocompatível”.

#### 1.10.3 Lesão de isquemia e reperfusão

Durante a CEC, o coração e os pulmões são excluídos da circulação sistêmica pelo clampeamento da aorta. Após a retirada do *clamp*, existe uma liberação importante de citocinas pró-inflamatórias, que promovem o aumento da permeabilidade capilar, acúmulo de fluido intersticial, leucocitose, coagulopatia e disfunção de alguns órgãos.

A lesão de reperfusão ocorre principalmente pela interação entre o endotélio e os neutrófilos. Durante a fase isquêmica, existe importante lesão endotelial. Estas células promovem ativação e seqüestro dos neutrófilos. Durante este processo, ocorre grande produção de espécies reativas de oxigênio, liberação dos metabólitos do ácido araquidônico, como a prostaciclina, produção de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- $\alpha$  e ativação da resposta humoral (complemento e coagulação).

As espécies reativas de oxigênio afetam as células da microcirculação e também podem causar lesão direta na membrana das células, desnaturar proteínas ou atuarem como segundo mensageiro para estimular a resposta inflamatória aguda (179).

#### 1.10.4 Endotoxina

Durante a CEC pode ocorrer constrição dos vasos esplâncnicos e com isto, isquemia na mucosa entérica. Este fato promove mudanças na permeabilidade intestinal a patógenos da microbiota intestinal, com absorção de um lipopolissacarídeo (endotoxina) presente na parede celular das bactérias gram-negativas. Este é considerado um importante estímulo para o desenvolvimento da SIRS (180). Níveis elevados de endotoxina estimulam a via alternativa do

complemento, estimulando a liberação de citocinas pró-inflamatórias e óxido nítrico, aumentando o nível de consumo de oxigênio (181).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Investigar as alterações microcirculatórias e inflamatórias sistêmicas, assim como a rigidez arterial, em diferentes tempos do pós-operatório de cirurgia de revascularização do miocárdio com circulação extracorpórea.

### 2.2 Objetivos Específicos

Em pacientes com indicação cirúrgica de revascularização do miocárdio por conta de insuficiência coronariana, investigar, no dia do procedimento cirúrgico e 7 e 28 dias de pós operatório:

- A vasodilatação da microcirculação cutânea, enquanto reflexo da microcirculação coronariana, abordando mecanismos dependentes e/ ou independentes do endotélio;
- A vasodilatação da microcirculação cutânea, induzida por hiperemia térmica e/ ou reativa pós oclusiva;
- O impacto da doença e da intervenção cirúrgica sobre a produção e circulação de citocinas e marcadores inflamatórios, utilizando a medição da concentração plasmática de nitritos e nitratos, bem como técnica *multiplex*, focalizando: IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e G-CSF;
- Rigidez arterial, através do *stiffness index* e da onda de pressão refletida.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Questões éticas**

Trata-se de um estudo observacional de corte transversal. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto (#protocolo 2321-CEP/HUPE), Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

#### **3.2 Pacientes**

Compuseram o estudo pacientes portadores de insuficiência coronariana, do Serviço de Cirurgia Cardiovascular do Hospital Universitário Pedro Ernesto, internados para realização de cirurgia de revascularização miocárdica. Não foram incluídos pacientes que seriam submetidos a cirurgias combinadas para tratamento de outras patologias (lesões orovalvares e alterações estruturais). Estes eram informados sobre a existência e o delineamento do estudo e após consentimento livre e esclarecido, submetidos a um questionário pré-operatório para avaliação clínico-demográfica, que incluía sexo, idade, medicamentos em uso e avaliação de fatores de risco para doença arterial coronariana, como: tabagismo, hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, dislipidemia e história familiar positiva. Nenhum paciente recebeu remuneração.

Todos os pacientes passaram por aferições de pressão arterial, avaliações laboratoriais e estudos de microcirculação, detalhados a seguir, que foram realizados no dia do procedimento cirúrgico e também, 7 e 28 dias após o mesmo. Os medicamentos utilizados pelos pacientes foram os mesmos em todos os tempos do trabalho.

### 3.3 Pressão arterial

Foram realizadas aferições da pressão arterial em posição deitada após repouso de cinco minutos, em duas verificações, utilizando-se o equipamento de monitoramento não invasivo DINAMAP® PRO, que fornece a leitura da pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC).

### 3.4 Avaliação laboratorial

Após jejum de 12h, foi realizada coleta matinal de sangue venoso para análise por método enzimático e colorimétrico de: glicemia, uréia, creatinina, colesterol total e frações, triglicerídeos, creatinoquinase (CK), transpeptidases (TGO e TGP), gama glutamil transferase (GGT), ácido úrico e albumina (Roche Cobas Mira Classic, Hoffmann-La Roche Ltd).

A dosagem de nitritos/nitratos plasmáticos (NO<sub>x</sub>) foi realizada através de ensaio colorimétrico (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA). Esta dosagem foi realizada em duas etapas: 1) conversão de nitratos para nitritos através da nitrato redutase; 2) adição de reagentes de Griess, que convertem os nitritos em azo-compostos de coloração violeta, com posterior leitura fotométrica da absorbância devida ao azo-cromóforo, que corresponde linearmente às concentrações de NO<sub>2</sub><sup>-</sup>.

As dosagens de proteína C reativa de alta sensibilidade (PCR-HS) foram realizadas através de turbidimetria (Bio Systems, Barcelona, Espanha).

A análise das concentrações plasmáticas de citocinas foi realizada através de sistema de dosagem “multiplex”, que utiliza bilhas codificadas por cores, possibilitando a dosagem simultânea de múltiplas citocinas em uma única amostra (BioPlex human cytokine 17-plex panel, Bio-Rad Laboratories Inc.).

### 3.5 Estudo da microcirculação

A reatividade microvascular cutânea foi avaliada através da técnica de fluxometria laser Doppler (comprimento de onda de 780 nm; Periflux 5001, Perimed

AB, Järfälla, Suécia), realizada sempre no período da manhã, após 20 minutos de aclimação em uma sala com temperatura controlada em  $23 \pm 1$  °C, na posição supina.

Para tanto, foi fixada por meio de uma fita adesiva dupla face, na face anterior distal do antebraço esquerdo, uma câmara que acondiciona uma sonda laser e que contém a solução salina para ser realizada a iontoforese, sendo a temperatura da sonda padronizada para 32 °C durante todos os testes.

O sinal de Doppler foi registrado em computador através de software de aquisição automática de dados (Perisoft for Windows).

### 3.5.1 Estímulos Farmacológicos

O mesmo sistema de fluxometria laser Doppler acoplado a sistema farmacológico de micro-iontoforese (Perilont, Perimed AB, Järfälla, Suécia) foi utilizado para a avaliação contínua e não-invasiva das variações de fluxo microvascular dependentes (acetilcolina) e independentes (nitroprussiato de sódio) do endotélio. Os eletrodos eram preenchidos com 200 µl de solução de 1% de acetilcolina ou 1% de nitroprussiato de sódio (Sigma Chemical CO, USA). Os eletrodos neutros (dispersão da corrente) eram instalados 15 cm acima dos eletrodos de infusão.

As seguintes variáveis de fluxometria por laser-Doppler foram avaliadas: fluxo basal e fluxo máximo alcançado em cada dose, mensurados através das unidades arbitrárias de perfusão (10 mV = 1 PU), além da área sob a curva de vasodilatação (unidades arbitrárias de perfusão/segundo, PU/seg).

#### 3.5.1.1 Avaliação da resposta microvascular dependente de endotélio

Após registro da linha de base do fluxo microvascular cutâneo durante cinco minutos, a reatividade microvascular foi avaliada através da administração por iontoforese de quatro doses cumulativas de acetilcolina a 1% com corrente anódica de 0,1 mA por 10, 20, 40 e 80 segundos, para atingir cargas de 1, 2, 4 e 8 mC, respectivamente. O fluxo foi gravado por dois minutos, para cada dose, sem que houvesse retorno ao fluxo basal.

### 3.5.1.2 Avaliação da resposta microvascular independente de endotélio

Em um sítio diferente, e não simultaneamente, foi realizada a iontoforese com nitroprussiato de sódio a 1% com corrente catódica de 0,1 mA por 10, 20, 40 e 80 segundos sucessivamente, para atingir cargas de 1, 2, 4 e 8 mC, respectivamente. Da mesma forma, o fluxo foi também gravado por dois minutos, para cada dose, sem que houvesse retorno ao fluxo basal.

### 3.5.2 Estímulos Fisiológicos

#### 3.5.2.1 Hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO)

Foi instalado um esfigmomanômetro no braço dos participantes para aplicar uma pressão de 200 mmHg e induzir oclusão arterial por três minutos partindo do fluxo basal. Após rápida descompressão, as alterações do fluxo microvascular pela liberação de vasodilatadores de origem endotelial, que resulta do aumento das forças de cisalhamento no período pós-isquêmico foram gravadas para avaliar a hiperemia reativa pós-oclusiva.

Foram avaliados os seguintes parâmetros: fluxo basal, “zero biológico” (estabilização do fluxo após vasoconstricção máxima) e pico máximo de fluxo em unidades arbitrárias de perfusão (PU); área sob a curva de hiperemia reativa pós-oclusiva (PU/seg); tempo para atingir o pico máximo de vasodilatação (*time-to-peak*) e intervalo de tempo até 50% de queda da resposta máxima (TH2) de vasodilatação cutânea durante HRPO.

#### 3.5.2.2 Hiperemia Térmica

Foi utilizada sonda específica de raio laser (Perilont, Perimed AB, Järfälla, Suécia) para indução de resposta de hiperemia térmica, aumentando-se a temperatura da mesma para 44° C, a qual era mantida durante 20 minutos, induzindo tipicamente a resposta de vasodilatação máxima (108). As alterações do

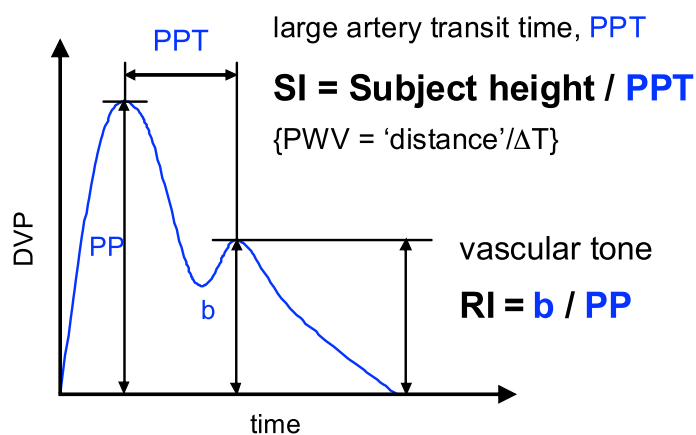


fluxo foram avaliadas como pico máximo de vasodilatação, expresso em unidades arbitrárias de perfusão (PU) e área sob a curva de hiperemia térmica (PU/seg). Na realidade, o aquecimento local da pele induz potente efeito vasodilatador mediado tanto por reflexos neurogênicos quanto por diferentes mediadores endógenos dotados de atividade vasodilatadora, tais como o NO (182).

### 3.6 Avaliação da rigidez arterial

A reatividade arterial foi avaliada através da análise do volume de pulso digital, resultando no registro da onda de pulso periférico através de aparelho de foto-pletismografia, com utilização de luz infravermelha no comprimento de onda de 940 nm (PulseTrace PCA2, Micro Medical, United Kingdom). O sensor foi instalado no dedo indicador da mão esquerda. O volume da onda de pulso digital nos forneceu componentes diretos e refletidos, sendo o componente direto relativo à propagação de uma onda de pulso do ventrículo esquerdo para o dedo e o componente refletido oriundo da onda de pulso transmitida do coração à parte inferior do corpo, onde é refletida de volta à aorta e, posteriormente, ao dedo. Desta forma, este dispositivo calcula automaticamente, através da análise da onda de pulso, o tempo entre a onda sistólica (primeiro pico) e o segundo pico (ponto de inflexão da curva), denominado PPT. O índice de rigidez arterial (SI, *stiffness index*) é calculado pela divisão da altura do indivíduo pelo PPT, enquanto o índice de reflexão (RI, *reflection index*), é definido como sendo a altura do segundo pico dividido pela altura do pico sistólico (figura 3.1).

Apesar de haver um retardo do componente refletido, com relação ao componente direto, por um espaço de tempo diretamente relacionado com a velocidade da onda de pulso na aorta, o componente refletido está diretamente relacionado com o tônus vascular, ou seja, o diâmetro das arteríolas de médio e pequeno calibre.



**Figura 3.1.** Representação esquemática da onda de pulso periférico, obtida através de foto-pletismografia digital. Adaptado de Millasseau et al.(49). PPT: fração de tempo entre a onda sistólica e o ponto de inflexão da curva. SI (*stiffness index*): índice de rigidez arterial, calculado pela divisão da altura do indivíduo, em centímetros, pelo PPT. RI (*reflection index*): índice de reflexão, definido como sendo a altura do segundo pico (b, onda refletida) dividida pela altura da onda sistólica (pressão de pulso).

### 3.7 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada através do software GraphPad Prism (GraphPad Software Inc., La Jolla, California, USA).

Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média ou mediana (intervalo interquartil). A normalidade dos valores foi testada através do teste de Shapiro-Wilk. Os dados que apresentavam distribuição normal foram analisados através de análise da variância para medidas repetidas seguido pelo teste post-hoc de Bonferroni para a localização de diferenças significativas. Quando os dados não apresentavam uma distribuição normal, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido pelo teste post-hoc de Dunns para a localização de diferenças significativas. Um valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Casuística

Durante o período de outubro de 2008 a março 2010, foram abordados 74 pacientes que foram submetidos à cirurgia de revascularização do miocárdio no Serviço de Cirurgia Cardiovascular no Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE – UERJ). Foram excluídos os pacientes submetidos a cirurgias de emergência e cirurgias combinadas, tais como troca valvar e abordagem da aorta, os quais totalizaram 27. Desta forma, 48 pacientes preenchem os critérios para inclusão no trabalho. Destes, 24 foram submetidos apenas à avaliação pré-operatória, já que 6 evoluíram para o óbito durante o procedimento ou no pós-operatório imediato, 8 não obtiveram alta do CTI em tempo hábil para a realização dos estudos por complicações no pós-operatório mediato e imediato e 10 não quiseram retornar por motivos logísticos, como falta de transporte ou por motivos pessoais. Do restante dos pacientes (23), 16 foram submetidos às três avaliações (pré-op, 7d e 28d) e 7 a apenas duas avaliações (pré-op e 7d), conforme fluxograma da figura 4.1 e tabela 4.1. Os dados demográficos, hemodinâmicos e bioquímicos dos pacientes incluídos no estudo são apresentados nas tabelas 4.2, 4.3 e 4.4.



**Figura 4.1.** Fluxograma de inclusão e exclusão dos pacientes.

**Tabela 4.1.** Dados antropométricos dos 23 pacientes incluídos no estudo.

<b>Pacientes</b>	<b>CEC</b>	<b>CLAMP</b>	<b>Vasos</b>
1	110	91	1
2	64	41	3
3	85	60	3
4	64	42	2
5	75	52	4
6	74	45	3
7	80	68	2
8	84	43	2
9	63	57	2
10	68	48	4
11	125	105	4
12	80	56	4
13	140	105	4
14	55	31	3
15	94	70	5
16	70	56	2
17	70	48	2
18	90	47	4
19	136	121	3
20	40	27	2
21	56	40	3
22	83	50	3
23	77	50	3

**Tabela 4.2.** Dados antropométricos dos 23 pacientes incluídos no estudo.

<b>Variáveis</b>	
Idade (anos)	62,3 ± 1,9
Sexo masculino	16 (69,5%)
Peso (Kg)	74,98 ± 2,80
Altura (m)	1,63 ± 0,03
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	28,63 ± 1,41

Valores apresentados como média ± erro padrão da média.

IMC: índice de massa corporal.

**Tabela 4.3.** Parâmetros hemodinâmicos dos 23 pacientes incluídos no estudo.

<b>Parâmetros</b>	<b>Basal</b>	<b>7 dias</b>	<b>28 dias</b>
PAS (mmHg)	137,9 ± 3,1	132,3 ± 3,6	128,7 ± 5,6

PAD (mmHg)	74,4 ± 1,8	70,7 ± 2,0	69,7 ± 1,4
PAM (mmHg)	94,7 ± 1,8	91,7 ± 1,9	92,0 ± 1,9
FC (bpm)	63 ± 2	78 ± 2,6	71 ± 2,1

Valores apresentados como média ± erro padrão da média.

PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; PAM: Pressão arterial média; FC: Frequência cardíaca.

**Tabela 4.4.** Parâmetros bioquímicos dos 23 pacientes incluídos no estudo.

Variáveis	Basal	7 dias	28 dias
Colesterol total (mg/dL)	172,8 ± 10,3	162,7 ± 6,7	136,8 ± 9,0*
HDL-colesterol (mg/dL)	38,5 ± 3,0	32,5 ± 1,8	39,2 ± 2,8
LDL-colesterol (mg/dL)	90,4 ± 9,8	88,7 ± 7,0	44,1 ± 9,8**††
Triglicerídeos (mg/dL)	168,9 ± 15,4	192,7 ± 13,6	132,9 ± 11,4†
Glicemia (mg/dL)	133,9 ± 10,4	136,6 ± 9,2	116,1 ± 8,2
Uréia (mg/dL)	39,7 ± 2,2	38,1 ± 3,8	45,1 ± 3,2
Creatinina (mg/dL)	1,0 ± 0,1	0,96 ± 0,1	1,0 ± 0,1
CK (mg/dL)	81,4 ± 7,4	106,6 ± 27,1	61,4 ± 11,0
TGO (U/L)	23,8 ± 2,8	42,7 ± 7,5*	19,1 ± 1,1††
TGP (U/L)	18,9 ± 4,1	26,8 ± 5,4	14,8 ± 1,4
GGT (U/L)	70,9 ± 13,5	105,6 ± 12,0	75,4 ± 12,4
Ácido úrico (mg/dL)	5,9 ± 0,4	4,6 ± 0,3	5,1 ± 0,4
Albumina (mg/dL)	4,2 ± 0,1	3,2 ± 0,1***	3,9 ± 0,1†††

Valores apresentados como média ± erro padrão da média.

CK: creatinoquinase; GGT: gama-glutamil-transpeptidase; TGO: transaminase glutâmico oxalacética; TGP: transaminase glutâmico pirúvica.

\*P < 0,05; \*\*P < 0,01; \*\*\*P < 0,001: quando comparados aos valores basais.

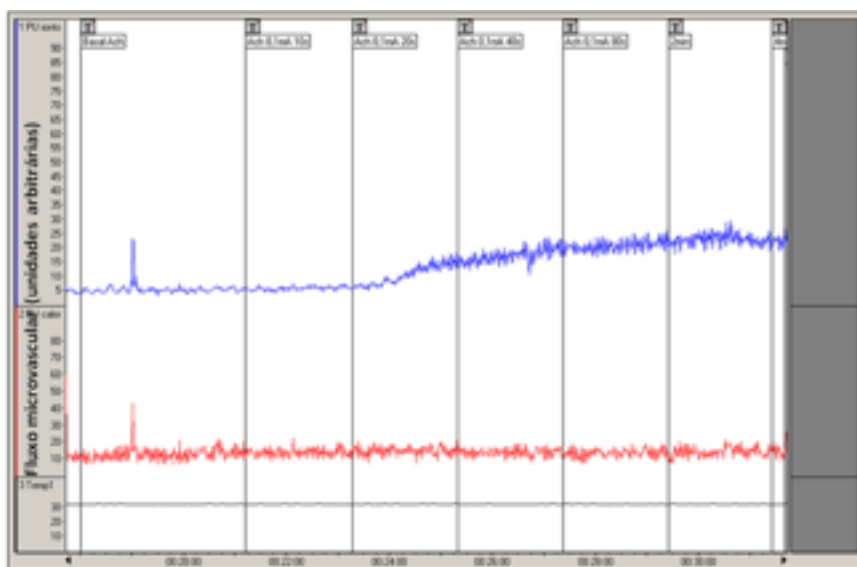
†P < 0,05; ††P < 0,01; †††P < 0,001: quando comparados aos valores de 7 dias.

## 4.2 Vasodilatação da microcirculação cutânea dependente de endotélio

A administração de acetilcolina através de iontoforese, nas cargas cumulativas de 1, 2, 4 e 8 mC induziu aumento do fluxo microvascular cutâneo dependente da dose/ carga administrada (figura 4.2 e tabela 4.5). Foi observada uma tendência à redução da vasodilatação da microcirculação cutânea induzida por acetilcolina, 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico, quando comparados ao basal (pré-operatório). No entanto, esta diferença não apresentou significância estatística.

A análise da condutância vascular cutânea após administração de acetilcolina através de iontoforese revelou padrão de resposta semelhante ao encontrado na análise do fluxo microvascular. O aumento da condutância foi semelhante nas doses de 1 e 2 mC no pré operatório e 7 dias após o procedimento. Nas doses de 4 e 8 mC, houve uma tendência a maior condutância vascular cutânea na avaliação do pré operatório. Após 28 dias, a resposta à acetilcolina foi inferior aos valores do pré operatório nas doses de 2, 4 e 8 mC. No entanto, esta diferença não alcançou significância estatística (tabela 4.6 e figura 4.3)

Com relação à área sob a curva da microcirculação cutânea, observou-se uma redução progressiva da resposta em 7 e 28 dias de pós operatório, com relação aos valores pré-operatórios. No entanto, esta diferença também não alcançou significância estatística (tabela 4.7 e figura 4.4).



**Figura 4.2.** Traçado típico de resposta de fluxo microvascular durante administração de acetilcolina através de iontoforese cutânea.

**Tabela 4.5.** Valores absolutos do fluxo microvascular cutâneo em unidades arbitrárias de perfusão (PU) observados após administração de acetilcolina nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Carga	Fluxo Microvascular (PU)		
	Basal	7 dias	28 dias
Basal	3,38 ± 0,34	3,20 ± 0,32	2,42 ± 0,24
1 mC	6,04 ± 0,98	4,99 ± 0,91	3,97 ± 0,41
2 mC	9,76 ± 1,57	9,45 ± 1,83	6,48 ± 0,83
4 mC	15,07 ± 2,01	12,49 ± 2,14	11,49 ± 1,77
8 mC	21,41 ± 2,84	15,88 ± 2,43	16,24 ± 2,52

Valores apresentados como média ± erro padrão da média  
mC: milicoulombs

**Tabela 4.6.** Valores absolutos de condutância vascular cutânea (PU/mmHg) observados após administração de acetilcolina nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Carga	Condutância Vascular Cutânea (PU/mmHg)		
	Basal	7 dias	28 dias
Basal	0,04 ± 0,004	0,04 ± 0,003	0,03 ± 0,003
1 mC	0,07 ± 0,011	0,07 ± 0,011	0,05 ± 0,005
2 mC	0,11 ± 0,019	0,11 ± 0,027	0,07 ± 0,010
4 mC	0,17 ± 0,024	0,14 ± 0,024	0,13 ± 0,022
8 mC	0,23 ± 0,033	0,18 ± 0,027	0,18 ± 0,032

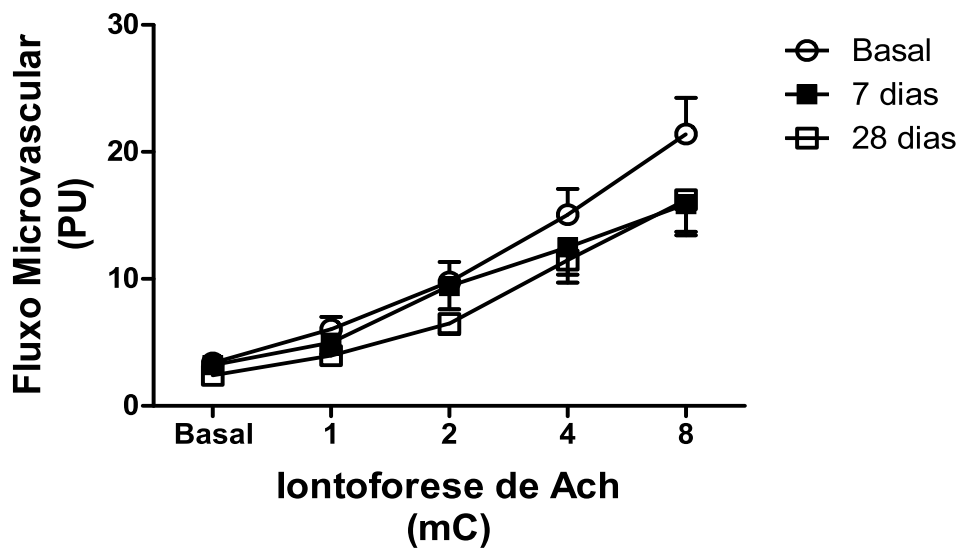
Valores apresentados como média ± erro padrão da média  
mC: milicoulombs

**Tabela 4.7.** Valores absolutos de área sob a curva de vasodilatação cutânea (PU/seg) observados após administração de acetilcolina nos períodos pré-operatório (basal), 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Área sob a Curva (PU/seg)		
Basal	7 dias	28 dias
4.555,36 ± 592,16	4.152,58 ± 668,72	3.284,12 ± 333,41

Valores apresentados como média ± erro padrão da média

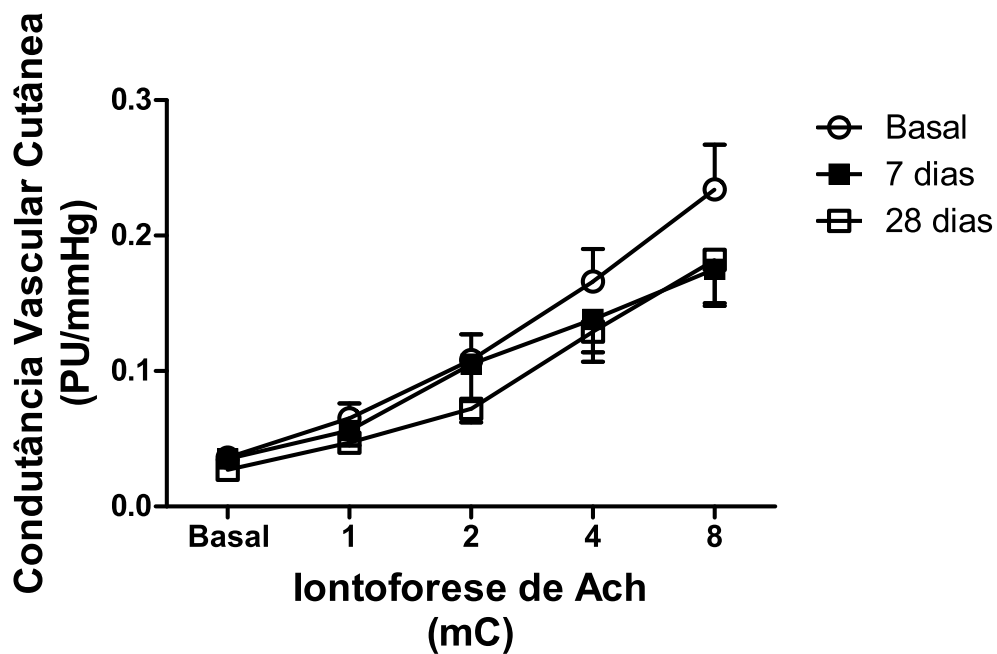




**Figura 4.3.** Aumento do fluxo microvascular cutâneo induzidos pela administração de acetilcolina nos períodos pré-operatório (basal), 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média.

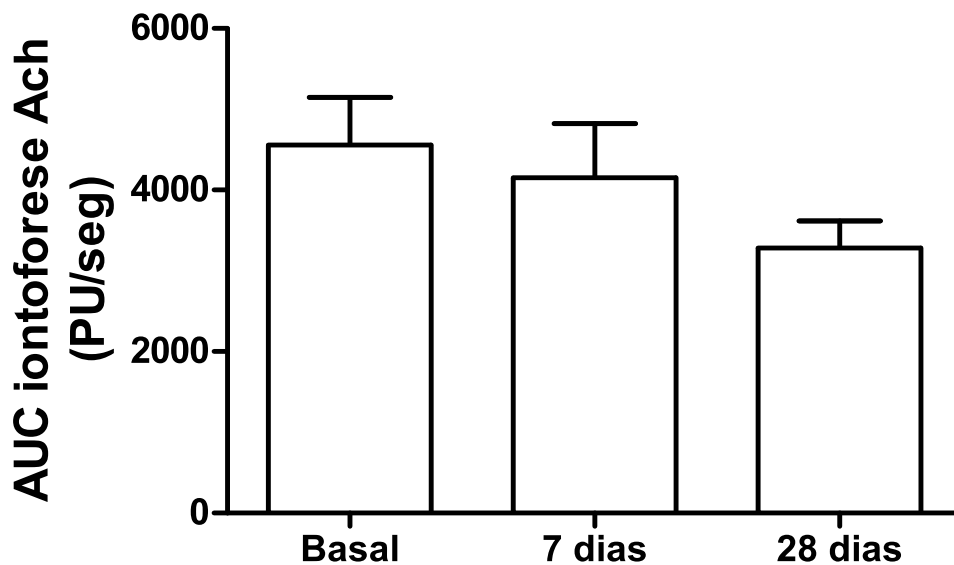
PU: unidades arbitrárias de perfusão; mC: milicoulombs; Ach: acetilcolina.



**Figura 4.4.** Aumento da condutância microvascular cutânea induzidos pela administração de acetilcolina nos períodos pré-operatório (basal), 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média.

PU: unidades arbitrárias de perfusão; mC: milicoulombs; Ach: acetilcolina.



**Figura 4.5.** Área sob a curva de vasodilatação da microcirculação cutânea induzida pela administração de acetilcolina no pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média.

AUC: área sob a curva de vasodilatação; PU: unidades arbitrárias de perfusão; mC: miliCoulombs; Ach: acetilcolina.

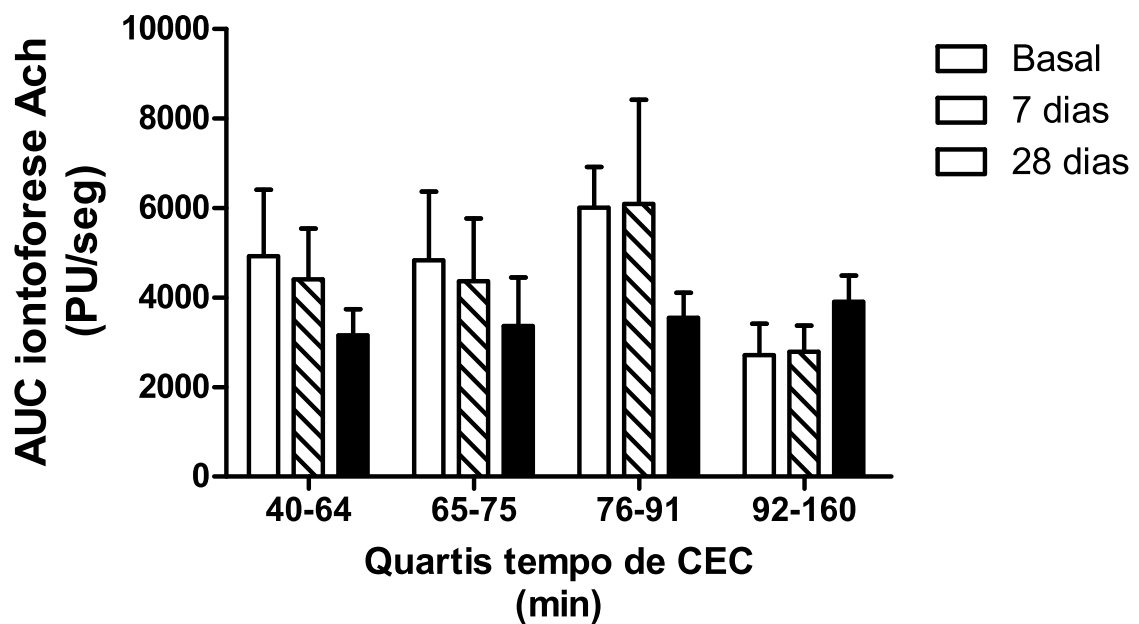
Os pacientes submetidos à avaliação da microcirculação, através da administração cutânea da acetilcolina, foram alocados em quartis, de acordo com o tempo de circulação extracorpórea (CEC). Os pacientes que se encontravam nos quartis 1 (40-64 min), 2 (65-75) e 3 (76-91), ou seja, que foram submetidos a menor tempo de CEC, apresentaram uma tendência à redução da resposta endotelial em 28 dias de pós-operatório. De maneira paradoxal, nos pacientes com maior tempo de circulação extracorpórea (quartil 4, 92-160 min), houve uma tendência ao aumento da resposta endotelial em 28 dias de pós-operatório, quando comparados aos valores obtidos na avaliação basal e após 7 dias do procedimento. Cabe ressaltar que foi observada uma linearidade de resposta da área sob a curva entre os 4 quartis aos 28 dias de pós-operatório. Nenhum destes valores, no entanto, apresentou diferenças com significância estatística (tabela 4.8 e figura 4.6).

**Tabela 4.8.** Valores absolutos de área sob a curva de vasodilatação cutânea (PU/seg) observados após administração de acetilcolina nos períodos pré-operatório (basal), 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico. Os valores foram distribuídos em quartis, de acordo com o tempo de circulação extracorpórea.

Quartis CEC (min)	Área sob a Curva (PU/seg)		
	Basal	7 dias	28 dias
40-64	4.924,46 ± 1.623,53	4.405,72 ± 1.241,60	3.152,38 ± 524,55
65-75	4.831,76 ± 1.376,98	4.364,99 ± 1.254,34	3.359,79 ± 977,74
76-91	6.001,41 ± 915,66	6.090,05 ± 2.229,97	3.544,92 ± 433,61
92-160	2.711,33 ± 701,06	2.790,70 ± 580,42	3.904,11 ± 450,72

Valores apresentados como média ± erro padrão da média

CEC: circulação extracorpórea



**Figura 4.6.** Área sob a curva de vasodilatação da microcirculação cutânea induzida pela administração de acetilcolina, alocadas em quartis, de acordo com os tempos de circulação extracorpórea.

Valores apresentados como média ± erro padrão da média.

AUC: área sob a curva de vasodilatação; PU: unidades arbitrarias de perfusão; mC: miliCoulombs; Ach: acetilcolina; CEC: circulação extracorpórea.

### 4.3 Vasodilatação da microcirculação cutânea independente de endotélio

Após a administração de nitroprussiato de sódio por iontoforese nas cargas cumulativas de 1, 2, 4 e 8 mC, observou-se um aumento do fluxo microvascular cutâneo dependente da dose/ carga administrada. No entanto, não foi observada nenhuma diferença entre os valores obtidos no pré operatório e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico (tabela 4.9 e figura 4.7). A análise das alterações da condutância vascular cutânea induzidas pela administração de nitroprussiato de sódio mostrou um padrão de resposta análogo àquele observado com relação ao fluxo microvascular (tabela 4.10 e figura 4.8).

Com relação à área sob a curva de vasodilatação da microcirculação cutânea, não foi observada nenhuma alteração da vasodilatação independente de endotélio aos 7 e 28 dias de pós operatório, com relação aos valores pré-operatórios (tabela 4.11 e figura 4.9).

**Tabela 4.9.** Valores absolutos do fluxo microvascular cutâneo em unidades arbitrárias de perfusão (PU) observados após administração de nitroprussiato de sódio nos períodos pré-operatório (basal), 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Carga	Fluxo Microvascular (PU)		
	Basal	7 dias	28 dias
Basal	3,55 ± 0,34	3,40 ± 0,35	3,40 ± 0,40
1 mC	5,64 ± 0,88	4,89 ± 0,52	5,56 ± 0,73
2 mC	8,45 ± 1,02	6,89 ± 0,81	8,73 ± 1,19
4 mC	13,04 ± 1,40	10,88 ± 1,58	14,39 ± 2,14
8 mC	22,14 ± 2,36	20,95 ± 3,13	24,28 ± 3,05

Valores apresentados como média ± erro padrão da média

mC: milicoulombs

**Tabela 4.10.** Valores absolutos de condutância vascular cutânea (PU/mmHg) observados após administração de nitroprussiato de sódio nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Carga	CVC (PU/mmHg)		
	Basal	7 dias	28 dias
Basal	0,04 ± 0,004	0,04 ± 0,003	0,03 ± 0,003
1 mC	0,06 ± 0,010	0,05 ± 0,006	0,07 ± 0,010
2 mC	0,09 ± 0,015	0,08 ± 0,009	0,10 ± 0,014
4 mC	0,14 ± 0,016	0,12 ± 0,018	0,16 ± 0,024
8 mC	0,24 ± 0,027	0,23 ± 0,036	0,27 ± 0,034

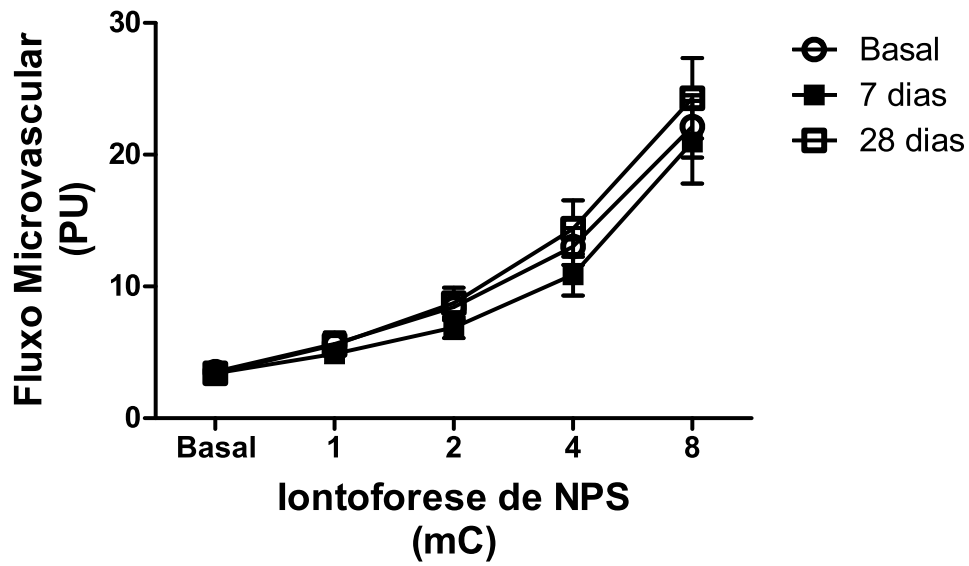
Valores apresentados como média ± erro padrão da média

CVC: condutância vascular cutânea.

**Tabela 4.11.** Valores absolutos de área sob a curva de vasodilatação cutânea (PU/seg) observados após administração de nitroprussiato de sódio nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

	Área sob a Curva (PU/seg)		
	Basal	7 dias	28 dias
	5.756,34 ± 584,66	5.295,28 ± 724,85	5.751,63 ± 616,63

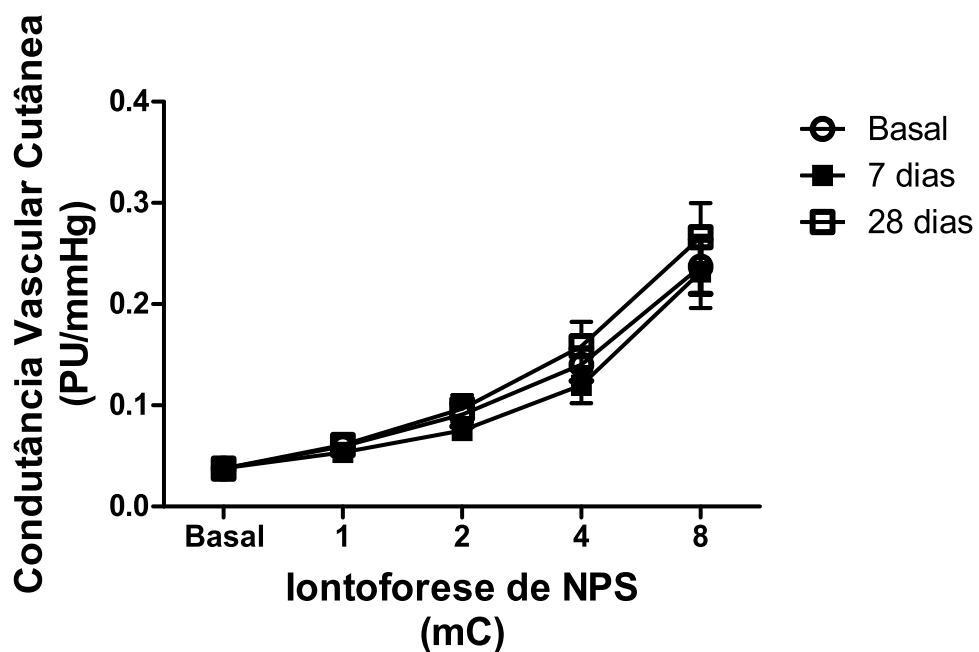
Valores apresentados como média ± erro padrão da média



**Figura 4.7.** Aumento do fluxo microvascular cutâneo induzido pela administração de nitroprussiato de sódio nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média.

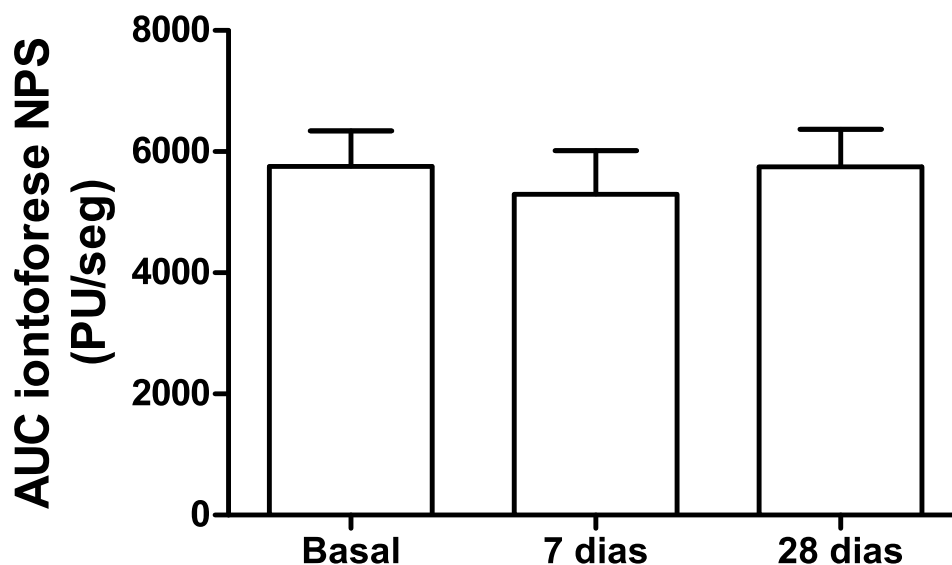
PU: unidades arbitrárias de perfusão; mC: miliCoulombs; NPS: nitroprussiato de sódio.



**Figura 4.8.** Aumento da condutância microvascular cutânea induzido pela administração de nitroprussiato de sódio nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média.

PU: unidades arbitrárias de perfusão; mC: miliCoulombs; NPS: nitroprussiato de sódio.



**Figura 4.9.** Área sob a curva de vasodilatação da microcirculação cutânea induzida pela administração de nitroprussiato de sódio no pré operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média.

AUC: área sob a curva; PU: unidades arbitrárias de perfusão; NPS: nitroprussiato de sódio.

Todos os pacientes submetidos à avaliação da função microcirculatória foram alocados em quartis, de acordo com o tempo de circulação extracorpórea ao qual foram submetidos. Conforme pode ser observado na figura 4.10, o cálculo da área sob a curva da vasodilatação da microcirculação cutânea induzida pela administração de nitroprussiato de sódio não demonstrou modificações significativas, quando avaliados os valores basais nos diferentes quartis. A avaliação dos pacientes após 7 dias do procedimento cirúrgico demonstrou redução na resposta ao nitroprussiato de sódio nos pacientes alocados nos quartis 2, 3 e 4. Após 28 dias do procedimento cirúrgico, os pacientes que se encontravam no quartil 2 apresentaram aumento da resposta, superando, inclusive os valores basais. Já os pacientes nos quartis 1 e 3 apresentaram níveis semelhantes àqueles observados aos 7 dias. Por sua vez, o quartil 4 apresentou valores maiores aos 28 dias que aos 7 dias, embora menores que os basais. Os resultados, porém, não alcançaram significância estatística (tabela 4.12).

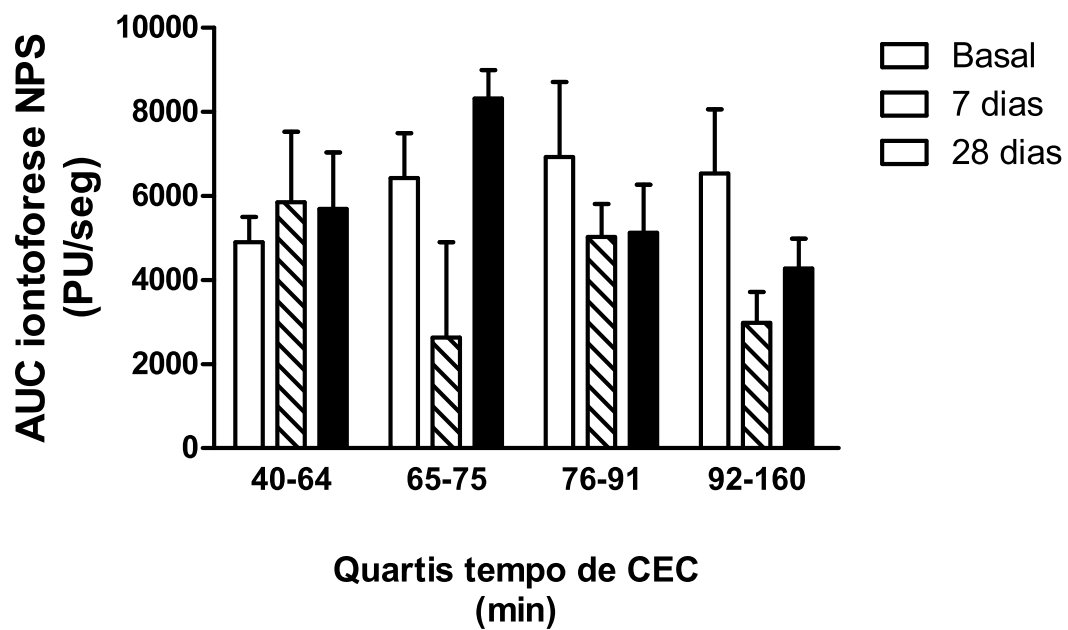




**Tabela 4.12.** Valores absolutos de área sob a curva de vasodilatação cutânea (PU/seg) observados após administração de nitroprussiato de sódio nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico. Os valores foram distribuídos em quartis, de acordo com o tempo de circulação extracorpórea.

Quartis CEC (min)	Área sob a Curva (PU/seg)		
	Basal	7 dias	28 dias
40-64	4.896,23 ± 660,62	5.842,65 ± 1.843,20	5.687,35 ± 1.204,53
65-75	6.419,92 ± 960,52	5.350,79 ± 2.026,57	8.308,82 ± 608,37
76-91	6.920,35 ± 1.792,32	5.018,82 ± 790,62	5.124,51 ± 881,74
92-160	6.528,29 ± 1.530,19	2.970,98 ± 733,83	4.274,86 ± 547,38

Valores apresentados como média ± erro padrão da média



**Figura 4.10.** Área sob a curva de vasodilatação da microcirculação cutânea induzida pela administração de nitroprussiato de sódio, alocados em quartis de acordo com os tempos de circulação extracorpórea.

Valores apresentados como média ± erro padrão da média.

AUC: área sob a curva; PU: unidades arbitrárias de perfusão; CEC: circulação extracorpórea; NPS: nitroprussiato de sódio.

#### 4.4 Vasodilatação máxima da microcirculação cutânea induzida por hiperemia térmica

A aplicação local de calor para avaliação da hiperemia térmica revelou vasodilatação mais acentuada da microcirculação cutânea no pré-operatório do que aos 7 e 28 dias após o tratamento, momentos nos quais a vasodilatação foi semelhante. No entanto, a análise da área sob a curva de vasodilatação mostrou que estas mudanças não foram estatisticamente significativas (tabela 4.13 e figura 4.11).

A análise da condutância vascular cutânea máxima obtida com a hiperemia térmica e o pico máximo do calor apresentaram padrão semelhante de resposta. Ambas apresentaram queda da reatividade após 7 dias do procedimento com recuperação parcial na análise do 28º dia. Porém a análise também não revelou significância estatística (tabelas 4.14 e 4.15 e figuras 4.12 e 4.13).

**Tabela 4.13.** Valores absolutos de áreas sob as curvas de vasodilatação cutânea (PU/seg) induzidas por calor nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Basal	7 dias	28 dias
67.056,82 ± 6.871,82	48.967,92 ± 6.804,92	53.802,41 ± 6.143,69

Valores apresentados como média ± erro padrão da média

**Tabela 4.14.** Valores absolutos máximos de condutância vascular cutânea (PU/mmHg) observados durante a hiperemia térmica nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

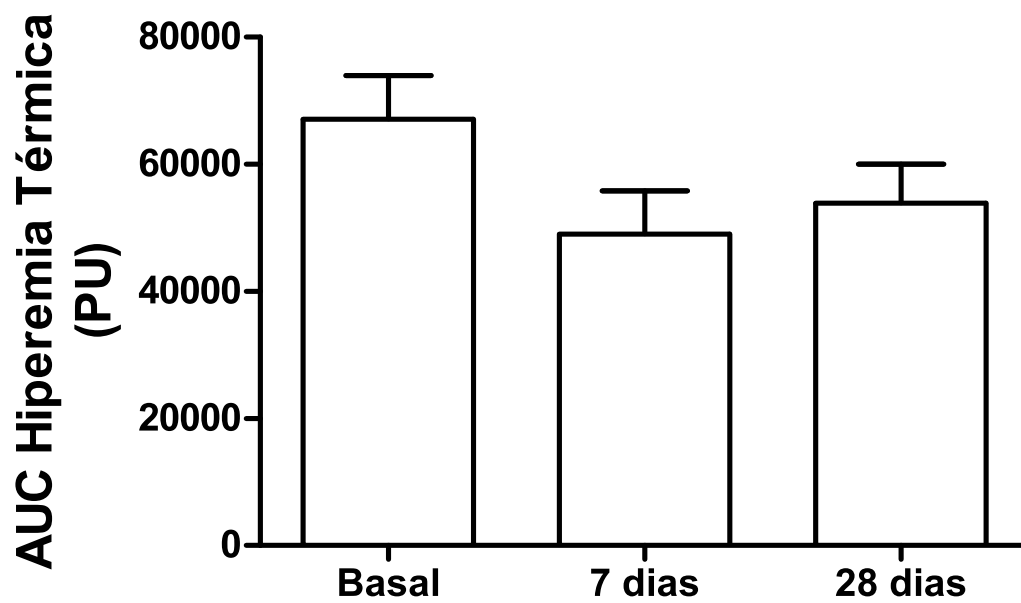
Basal	7 dias	28 dias
1,23 ± 0,140	0,83 ± 0,134	1,03 ± 0,105

Valores apresentados como média ± erro padrão da média

**Tabela 4.15.** Valores absolutos máximos de fluxo microvascular cutâneo em unidades arbitrárias de perfusão (PU) observados durante a hiperemia térmica nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

	Basal	7 dias	28 dias
	115,79 ± 13,01	79,31 ± 11,23	94,12 ± 9,65

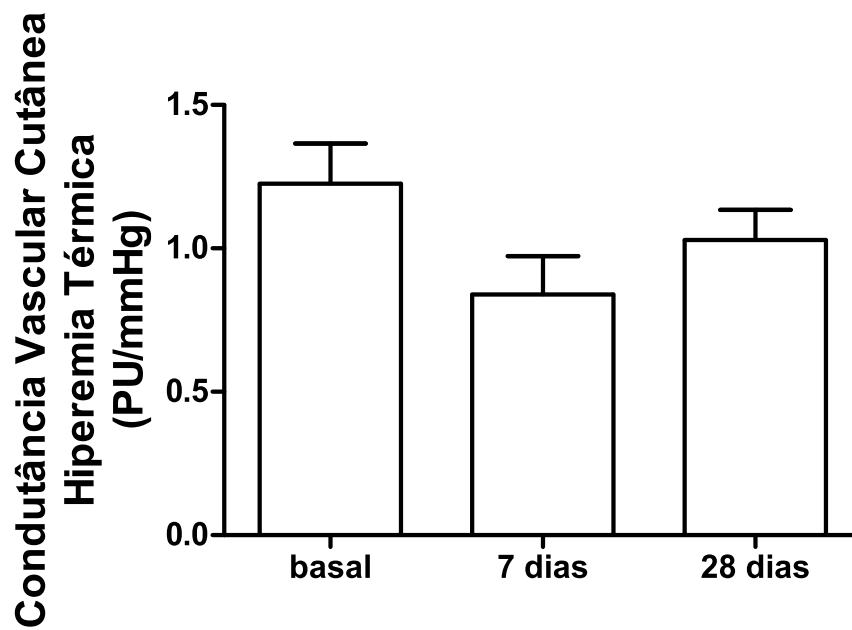
Valores apresentados como média ± erro padrão da média



**Figura 4.11.** Área sob a curva de vasodilatação da microcirculação cutânea induzida pelo estímulo térmico no pré-operatório e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Valores apresentados como média ± erro padrão da média.

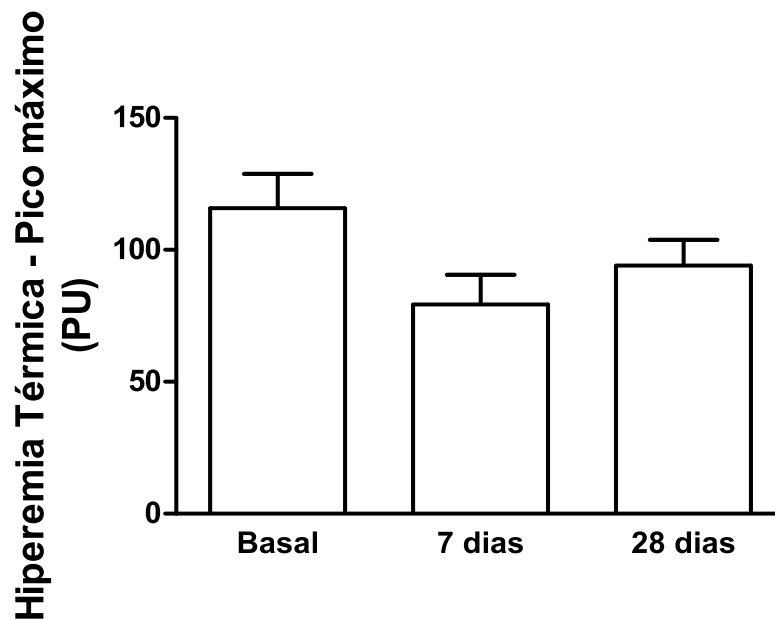
AUC: área sob a curva; PU: unidades arbitrárias de perfusão.



**Figura 4.12.** Aumento máximo da condutância microvascular cutânea induzido pelo estímulo térmico no período pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média.

PU: unidades arbitrárias de perfusão.



**Figura 4.13.** Pico máximo de vasodilatação da microcirculação cutânea induzida por estímulo térmico no pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média.

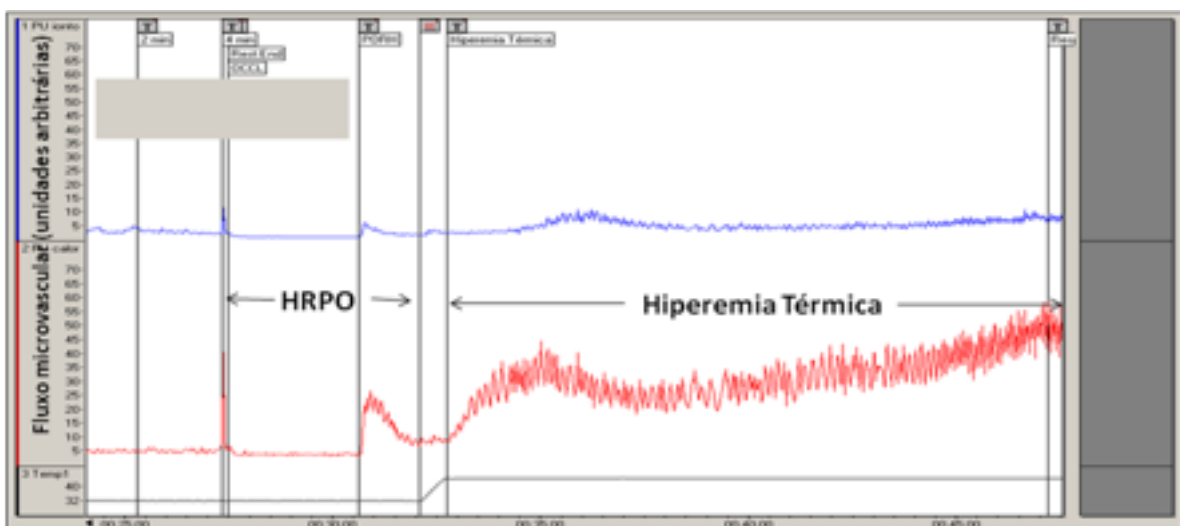
PU: unidades arbitrárias de perfusão.

#### 4.5 Vasodilatação da microcirculação cutânea induzida por hiperemia reativa pós-oclusiva.

A análise da condutância vascular cutânea máxima durante a hiperemia reativa pós-oclusiva (figura 4.14) não demonstrou alterações na resposta após 7 dias do procedimento cirúrgico em comparação ao valor basal. No 28º dia, houve tendência ao aumento da condutância vascular cutânea máxima (tabela 4.16 e figura 4.15), porém sem significância estatística.

A análise da área sob a curva revelou vasodilatação crescente nos pontos analisados, porém, sem significância estatística (tabela 4.17 e figura 4.16). Não houve nenhuma variação significativa do pico máximo de vasodilatação cutânea durante HRPO (tabela 4.18 e figura 4.17).

Finalmente, o intervalo de tempo até o pico máximo (*time to peak*), assim como o intervalo de tempo até 50% de queda da resposta máxima (TH2) de vasodilatação cutânea induzida pela HRPO, não foram estatisticamente diferentes nos pontos estudados (tabelas 4.19 e 4.20 e figuras 4.18 e 4.19). No entanto cabe comentar que foi verificada uma tendência de aumento do pico máximo aos 7 dias de pós-operatório, tanto em relação ao valor basal quanto aquele verificado aos 28 dias.



**Figura 4.14.** Traçado típico de resposta de fluxo microvascular durante reação de hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO) e hiperemia térmica.

**Tabela 4.16.** Valores absolutos máximos de condutância vascular cutânea (PU/mmHg) observados durante a hiperemia reativa pós-oclusiva nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Basal	7 dias	28 dias
$0,26 \pm 0,024$	$0,24 \pm 0,032$	$0,30 \pm 0,033$

Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média

**Tabela 4.17.** Valores absolutos de áreas sob as curvas de vasodilatação cutânea (PU/seg) observados durante a hiperemia reativa pós-oclusiva nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Basal	7 dias	28 dias
$489,64 \pm 66,06$	$601,13 \pm 69,87$	$765,09 \pm 107,73$

Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média

**Tabela 4.18.** Valores absolutos máximos de fluxo microvascular cutâneo em unidades arbitrárias de perfusão (PU) observados durante a hiperemia reativa pós-oclusiva nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Basal	7 dias	28 dias
$25,74 \pm 1,92$	$24,73 \pm 2,25$	$28,0 \pm 2,85$

Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média

**Tabela 4.19.** Valores absolutos de intervalos de tempo até o pico máximo de vasodilatação (*time to peak*) (segundos) observados durante a hiperemia reativa pós-oclusiva nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

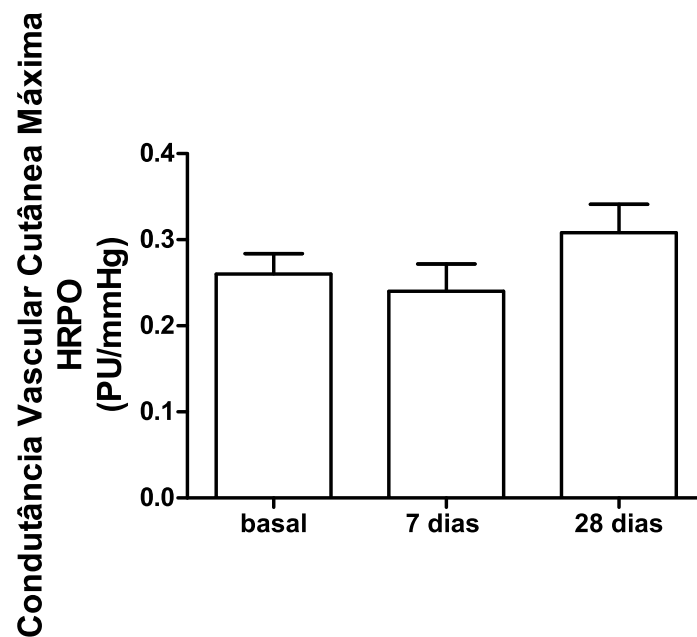
Basal	7 dias	28 dias
$11,07 \pm 1,61$	$15,57 \pm 1,71$	$13,35 \pm 1,54$

Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média

**Tabela 4.20.** Valores absolutos de intervalos de tempo até 50% de queda da resposta máxima de vasodilatação (TH2; segundos) observados durante a hiperemia reativa pós-oclusiva nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Basal	7 dias	28 dias
22,85 ± 2,72	28,18 ± 2,82	30,75 ± 3,04

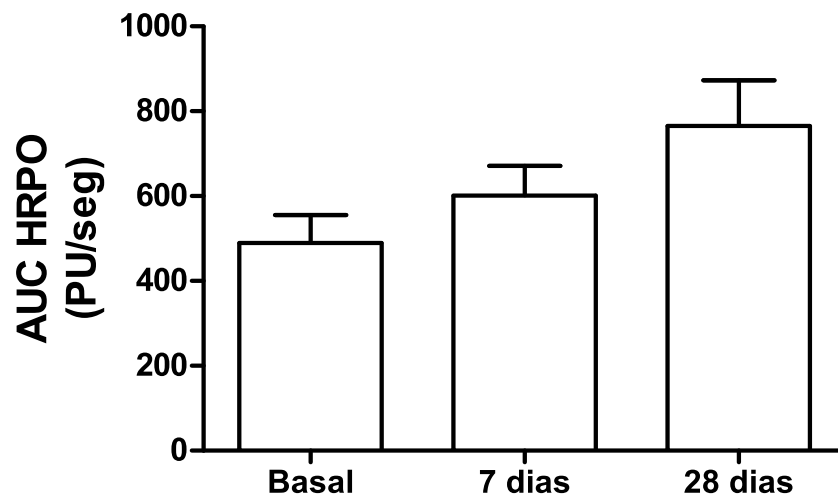
Valores apresentados como média ± erro padrão da média



**Figura 4.15.** Alterações da condutância vascular cutânea induzidas pela HRPO nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Valores apresentados como média ± erro padrão da média.

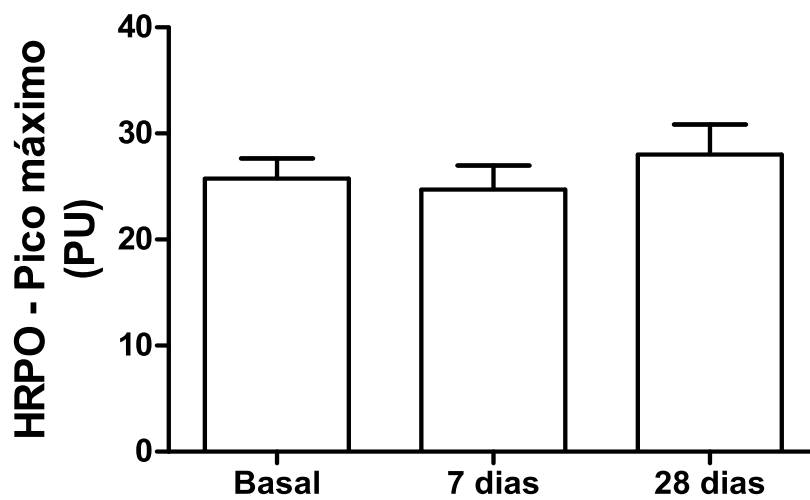
PU: unidades arbitrárias de perfusão; HRPO: hiperemia reativa pós-oclusiva.



**Figura 4.16.** Área sob a curva de HRPO cutânea nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média.

AUC: área sob a curva; PU: unidades arbitrárias de perfusão; HRPO: hiperemia reativa pós-oclusiva.

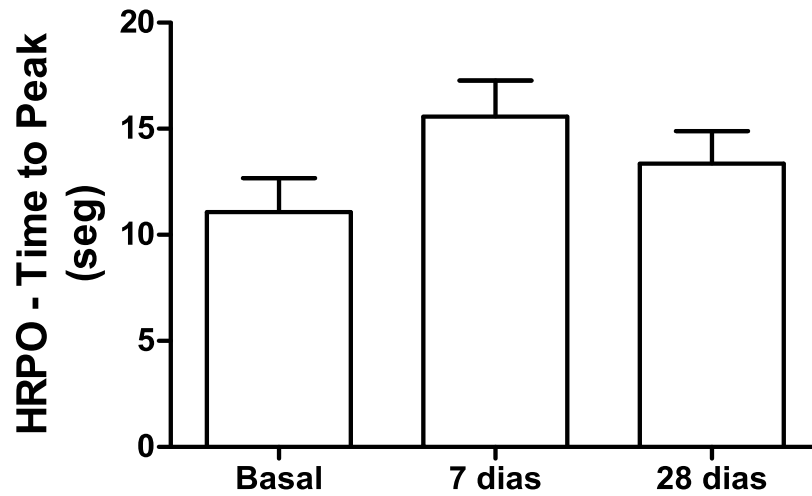


**Figura 4.17.** Pico máximo de vasodilatação cutânea durante HRPO nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

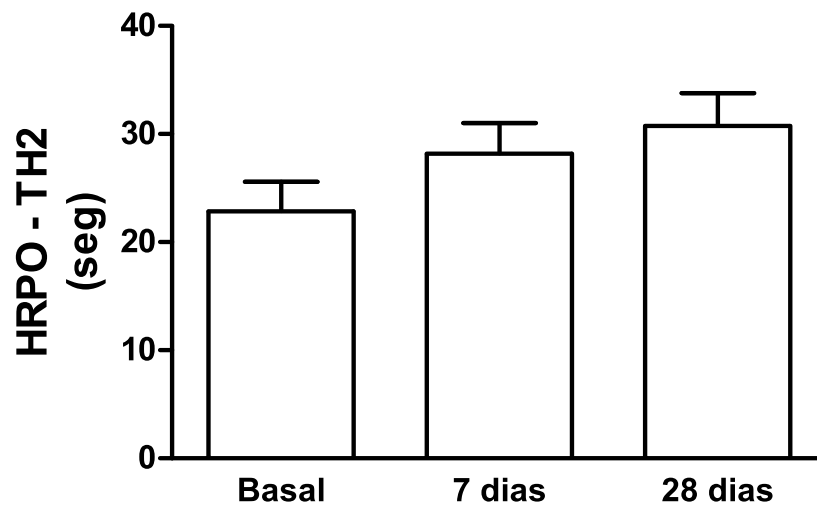
Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média.

PU: unidades arbitrárias de perfusão; HRPO: hiperemia reativa pós-oclusiva.





**Figura 4.18.** Intervalo de tempo até o pico máximo (*time to peak*) de vasodilatação cutânea durante HRPO nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico. Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média. HRPO: hiperemia reativa pós-oclusiva.



**Figura 4.19.** Intervalo de tempo até 50% de queda da resposta máxima (TH2) de vasodilatação cutânea durante HRPO nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico. Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média. HRPO: hiperemia reativa pós-oclusiva.

#### 4.6 Concentrações plasmáticas de citocinas e marcadores inflamatórios

Com relação aos marcadores inflamatórios, observou-se aumento significativo das concentrações plasmáticas de proteína C reativa no 7º dia de pós-operatório, sendo que esses valores voltaram a níveis basais no 28º dia após o procedimento cirúrgico (tabela 4.21 e figura 4.20).

As concentrações plasmáticas de nitritos/nitratos (NOx), utilizados como marcadores de função endotelial vascular, encontravam-se reduzidas tanto no 7º quanto no 28º dia de pós-operatório (tabela 4.21 e figura 4.21).

Por outro lado, as concentrações plasmáticas de interferon-gama (IFN- $\gamma$ ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e de fator estimulante de colônias de granulócitos (G-CSF) não mostraram entre os pontos analisados (tabela 4.21 e figuras 4.22, 4.23 e 4.24).

As concentrações plasmáticas das diferentes citocinas avaliadas no presente estudo mostraram padrão de resposta heterogêneo. Houve aumento nítido e significativo das interleucinas 6 e 8 no 7º dia de pós-operatório, havendo uma recuperação parcial no 28º dia após o procedimento cirúrgico (tabela 4.21 e figuras 4.25 e 4.26). Ao contrário, as interleucinas 7 e 10 não mostraram alteração evolutivas (tabela 4.21 e figuras 4.27 e 4.28).

**Tabela 4.21.** Concentrações plasmáticas de citocinas e marcadores inflamatórios dos pacientes incluídos no estudo.

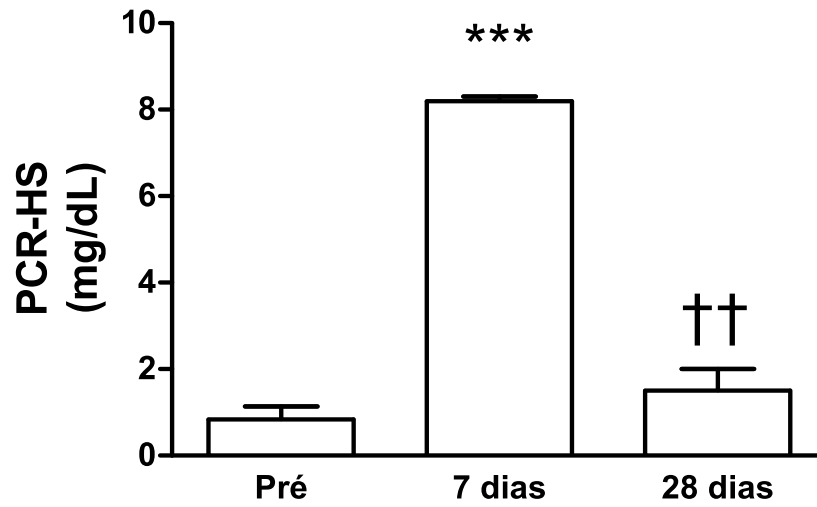
<b>Variáveis</b>	<b>Basal</b>	<b>7 dias</b>	<b>28 dias</b>
PCR-HS (mg/dL)	0,84 ± 0,3	8,2 ± 0,1***	1,5 ± 0,5††
NOx (µM)	91,9 ± 13,1	58,4 ± 8,0	65,5 ± 6,0
IFN-γ (pg/mL)	7,7 (0-84)	0 (0-33,2)	0 (0-7,7)
TNF-α (pg/mL)	7,8 (0-15,3)	0 (0-11,5)	7,8 (0-7,8)
G-CSF (pg/mL)	10,90 (0-37,3)	0 (0-14,9)	0 (0-10,9)
IL-6 (pg/mL)	16,1 (1,5-50,9)	125,1 (77,1-279,1)***	45,4 (15,2-84,4)†
IL-7 (pg/mL)	10,2 (4-18,2)	12,2 (6,4-24,5)	10,20 (2,8-13,70)
IL-8 (pg/mL)	104,3 (74,6-164,7)	213,6 (161,7-291,1)**	155,7 (72,63-192,5)
IL-10 (pg/mL)	Não detectado	Não detectado	Não detectado

Valores apresentados como média ± erro padrão da média ou mediana (intervalo interquartil).

G-CSF: fator estimulante de colônias de granulócitos; IFN-γ: interferon-gama; IL-6: interleucina-6; IL-7: interleucina-7; IL-8: interleucina-8; IL-10: interleucina-10; NOx: concentrações plasmáticas de nitritos/nitratos; PCR-HS: proteína C reativa de alta sensibilidade; TNF-α: fator de necrose tumoral alfa.

\*\*P < 0,01; \*\*\*P < 0,001: quando comparados aos valores basais.

†P < 0,05; ††P < 0,01: quando comparados aos valores de 7 dias.



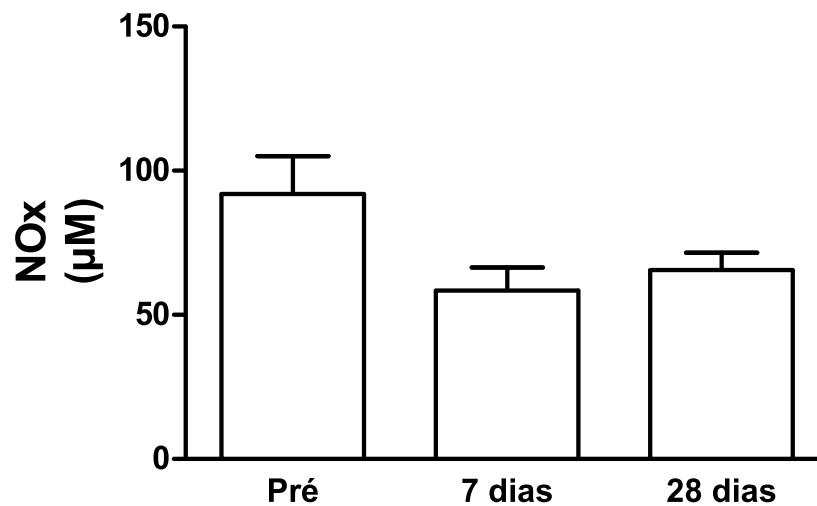
**Figura 4.20.** Concentrações plasmáticas de PCR-HS nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Barra= mediana dos valores.

PCR-HS: proteína C reativa de alta sensibilidade.

\*\*\*P < 0,001: quando comparado aos valores basais.

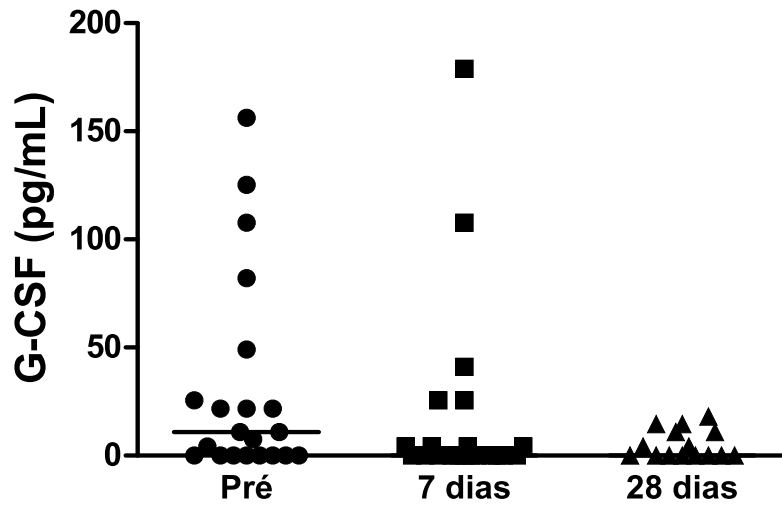
††P < 0,01: quando comparado aos valores de 7 dias.



**Figura 4.21.** Concentrações plasmáticas de nitritos/nitratos nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Barra= mediana dos valores. NOx: nitritos/nitratos.

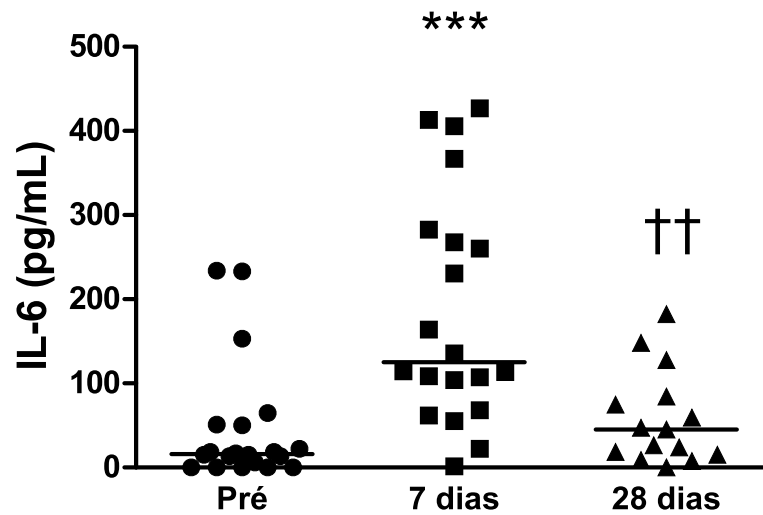




**Figura 4.24.** Concentrações plasmáticas de G-CSF nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Barra= mediana dos valores.

G-CSF: fator de estimulação de colônias de granulócitos.



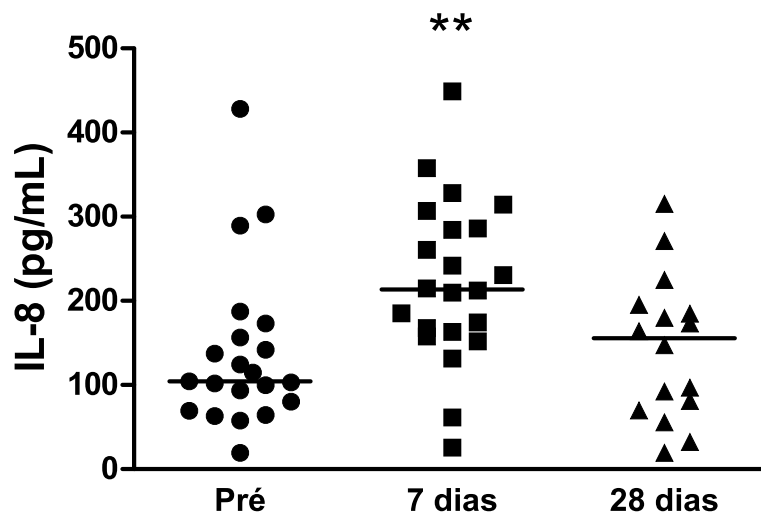
**Figura 4.25.** Concentrações plasmáticas de interleucina-6 nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Barra= mediana dos valores.

IL-6: interleucina-6.

\*\*\*P < 0,001: quando comparado aos valores basais.

††P < 0,01: quando comparado aos valores de 7 dias.

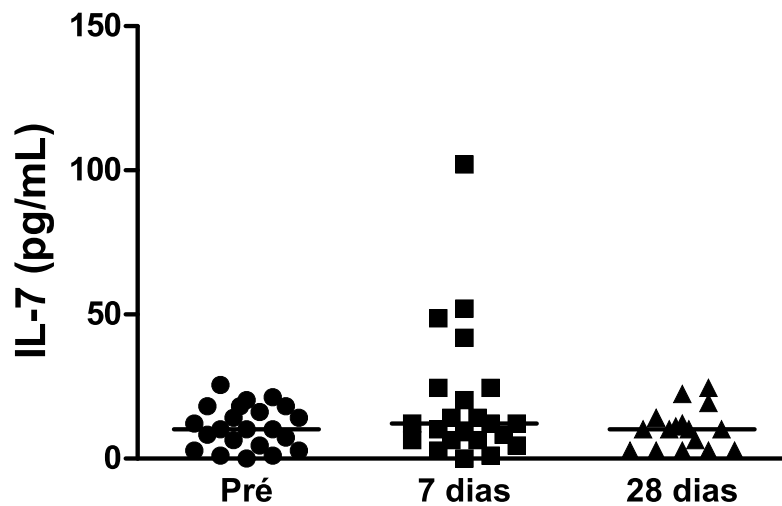


**Figura 4.26.** Concentrações plasmáticas de interleucina-8 nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Barra= mediana dos valores.

IL-8: interleucina-8.

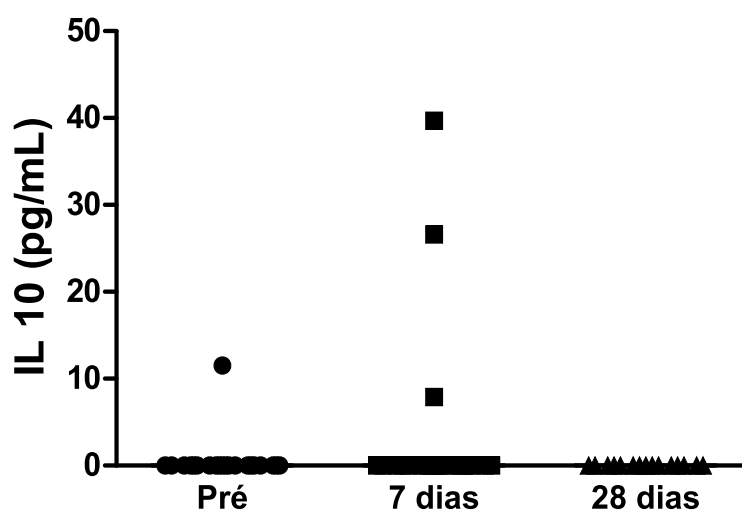
\*\*P < 0,01: quando comparado aos valores basais.



**Figura 4.27.** Concentrações plasmáticas de interleucina-7 nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Barra= mediana dos valores.

IL-7: interleucina-7.



**Figura 4.28.** Concentrações plasmáticas de interleucina-10 nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Barra= mediana dos valores.

IL-10: interleucina-10.

#### 4.7 Avaliação da rigidez arterial

A velocidade de onda de pulso aórtico avaliada através do índice de rigidez arterial (*stiffness index*), assim como a onda de pressão refletida (índice de reflexão), não sofreram alterações no pós-operatório, conforme se pode ver na tabela 4.22 e figuras 4.29 e 4.30.

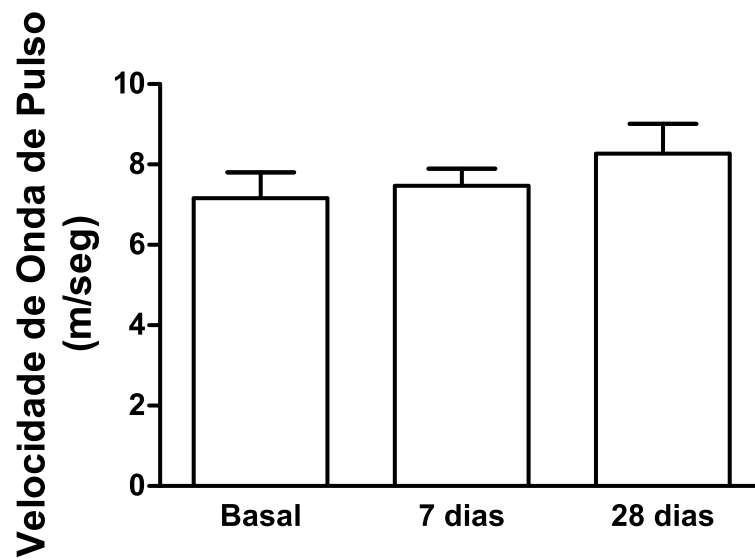
**Tabela 4.22.** Valores de velocidade de onda de pulso (índice de rigidez arterial) e índice de reflexão (onda refletida) nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico.

Parâmetro	Basal	7 dias	28 dias
VOP	7,16 ± 0,65	7,47 ± 0,43	8,27 ± 0,74
RI	55,9 ± 4,4	50,5 ± 3,2	54,4 ± 4,5

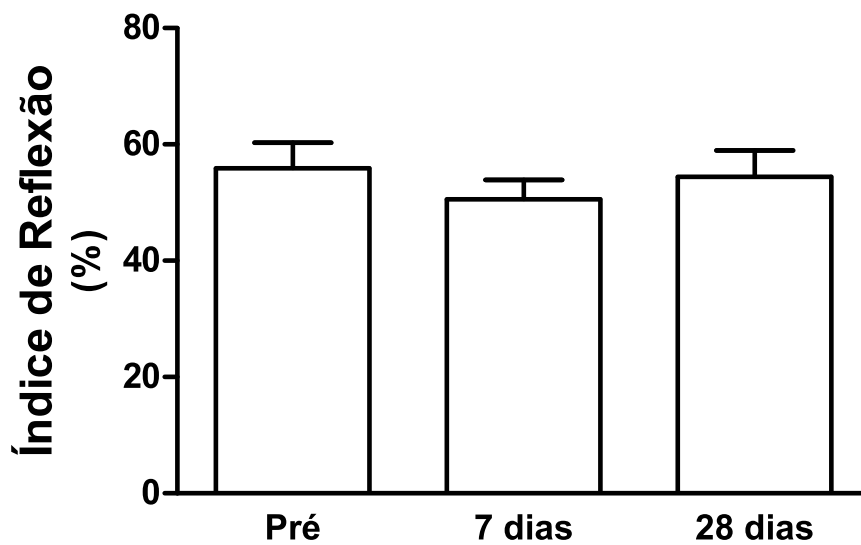
Valores apresentados como média ± erro padrão da média

VOP: velocidade de onda de pulso; RI: índice de reflexão





**Figura 4.29.** Valores da velocidade de onda de pulso arterial (índice de rigidez arterial) nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico. Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média.



**Figura 4.30.** Valores do índice de reflexão arterial (onda refletida da periferia) nos períodos pré-operatório (basal) e 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico. Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média.

## 5 DISCUSSÃO

No presente trabalho, investigamos a presença de disfunção endotelial microvascular, assim como sua provável correlação com marcadores sistêmicos de processo inflamatório, em diferentes tempos de pós-operatório de cirurgia cardíaca sob circulação extracorpórea. Dentre os parâmetros por nós escolhidos alguns apresentaram resultados interessantes e até intrigantes, enquanto outros mostraram conservação durante toda a investigação

### 5.1 Sobre a população estudada

O Serviço de Cirurgia Cardiovascular do Hospital Universitário Pedro Ernesto é um dos pioneiros em cirurgia de revascularização do miocárdio e neste foram desenvolvidas algumas técnicas cirúrgicas que atualmente são rotineiras em diversos países. Desta forma existe uma grande demanda espontânea de pacientes pelo atendimento por este prestado. Neste sentido, foi possível reunir uma população inicial para o estudo de 74 casos a qual, infelizmente, foi reduzida para 47 por conta da necessidade de exclusão dos casos, cuja insuficiência coronariana estava associada a problemas orovalvares ou cardiomiopatias. Por conta de óbitos, complicações inter e pós-operatórias e problemas logísticos, este “n” caiu ainda mais, de modo que só pudemos contar com 23 pacientes. Cabe ressaltar que este estudo não remunerou os pacientes que dele fizeram parte, o que acrescentou mais um problema, que foi a dificuldade de fazer com que todos retornassem para a avaliação dos 28 dias de pós-operatório (7 não retornaram). De fato, problemas financeiros e de infra-estrutura são responsáveis por uma queda de adesão dos pacientes neste e em outros estudos, bem como até mesmo ao acompanhamento ambulatorial e segmento clínico pós-cirúrgico.

Todos os pacientes que integraram o estudo possuíam indicação formal para revascularização cirúrgica do miocárdio por conta de insuficiência coronariana. Embora não tenha sido aqui explicitadas eventuais comorbidades, sabemos que este tipo de patologia é muito freqüentemente associado a condições, como hipertensão arterial sistêmica, tabagismo, diabetes mellitus, dislipidemia, entre

outras, as quais também podem estar envolvidas com doenças da microcirculação. Não obstante isso, a própria doença coronariana é um quadro de fisiopatologia complexa, que envolve aspectos da microcirculação, hemostasia e inflamatórios.

A técnica cirúrgica empregada em todos os 23 casos estudados consistiu na realização de esternotomia mediana convencional. Foram utilizados enxertos de veia safena magna e enxertos arteriais da artéria torácica interna esquerda. Desde o advento deste procedimento cirúrgico na década de 60, várias inovações tecnológicas foram incorporadas, o que permitiu redução da morbi mortalidade destes pacientes. Um procedimento correlato que foi aperfeiçoado foi a circulação extracorpórea (CEC). Desenvolvida originalmente para intervenções intra cavitárias (Comunicação interatrial), a CEC é hoje um procedimento rotineiro na revascularização do miocárdio (RVM) pois o uso desta permite que vasos de calibre mais fino possam ser abordados, com a realização de anastomoses com maior índice de patência a médio e longo prazos, assim como a abordagem de vasos mais laterais e posteriores.

No entanto, mesmo com toda a evolução tecnológica, a CEC promove importante reação inflamatória sistêmica, com aumento das citocinas tanto pró quanto anti-inflamatórias, bem como alterações nas cascatas de coagulação e do complemento, podendo resultar em disfunção de múltiplos órgãos (183, 184). Ao delinear a metodologia deste trabalho, imaginávamos uma avaliação comparativa da microcirculação entre pacientes no pós-operatório de RVM com ou sem CEC. Todavia, o inquestionável benefício desta técnica (184) que vem levando ao seu emprego rotineiro neste tipo de cirurgia, cria uma circunstância ética (oferecimento das melhores condições cirúrgicas possíveis) que nos impediu de criar um grupo controle sem CEC, o que nos permitiria correlacionar nossos achados com este procedimento.

Ainda quanto ao procedimento cirúrgico, é importante destacar que o nível tecnológico no qual se encontra a Cirurgia Cardiovascular vem trazendo impactos como, por exemplo, a redução no tempo cirúrgico. Tal fato se traduz em menor exposição aos agentes anestésicos, aos patógenos presentes no ambiente cirúrgico e a uma menor taxa de translocação bacteriana intestinal, o que poderia levar a sepse. Ainda, traduz-se em um menor tempo de CEC e clampeamento aórtico, reduzindo o tempo de isquemia cardíaca e conseqüentemente a concentração sérica

de citocinas pró-inflamatórias, já que o coração em isquemia é um importante produtor destas (172). Na população que estudamos, o tempo máximo de permanência em CEC foi de 160 minutos, mas 15 pacientes tiveram tempo inferior a 91 minutos, o que é satisfatório. Cabe enfatizar que, além do mencionado impacto cardíaco, tempos menores de perfusão significam menor impacto deletério sobre o endotélio vascular e a microcirculação. Neste sentido, ao analisarmos o conjunto dos nossos resultados, interpretamos que aqueles que não apresentaram diferença considerável entre o pré e o pós-operatório, podem estar refletindo uma minimização do trauma cirúrgico.

## **5.2 Avaliação da microcirculação**

Nas últimas duas décadas, o papel central da disfunção endotelial na fisiopatologia de doenças cardiovasculares e metabólicas tornou-se evidente (183, 185). A disfunção endotelial caracteriza-se essencialmente pela redução da biodisponibilidade de vasodilatadores endógenos de origem endotelial, tais como o óxido nítrico, assim como pelo aparecimento de um quadro pró-inflamatório, proliferativo e pró-trombótico (186). Tal disfunção é também considerada um marcador específico de risco de desenvolvimento de aterosclerose (65, 187, 188), além de ser atualmente universalmente reconhecido como um marcador precoce de aterosclerose sub-clínica (189). Além disso, devido à natureza sistêmica da disfunção endotelial, que afeta simultaneamente a circulação coronariana e leitos vasculares periféricos (190), fica evidente que a disfunção endotelial de grandes vasos, pequenas artérias de resistência e da microcirculação podem ser utilizados como marcadores substitutivos de lesão endotelial coronariana (191, 192). Portanto, a avaliação da função endotelial periférica poderia ser útil na investigação de uma correlação entre melhora da função endotelial após intervenções terapêuticas, bem como da morbi-mortalidade cardiovascular (73, 193, 194).

Devido a sua relevância clínica na predição de risco cardiovascular, existe interesse crescente no desenvolvimento de técnicas não-invasivas para a avaliação da função endotelial (192, 195). Neste contexto, o monitoramento da perfusão microvascular cutânea através de fluxometria laser-Doppler, (FLD) acoplada à administração de drogas vasoativas através da pele utilizando micro-iontoforese,

tem sido cada vez mais utilizado na avaliação clínica da função endotelial microvascular (107). Essa técnica tem sido utilizada na demonstração da existência de disfunção endotelial em diversas patologias cardiometabólicas, incluindo hipertensão arterial (196, 197), diabetes insulino-dependente (109, 198, 199) e insulino independente (200), resistência à insulina (201) e síndrome metabólica propriamente dita (202). Por exemplo, com a utilização de FLD, foi demonstrado que o tratamento com estatinas de pacientes que apresentavam hipercolesterolemia reverte a disfunção endotelial microvascular ao mesmo tempo em que reduz os níveis de colesterol plasmático (203).

A doença microvascular coronariana pode explicar a ocorrência de isquemia miocárdica sem obstrução coronariana (204), assim como falência cardíaca (205) e mortalidade após infarto agudo do miocárdio (206). Os métodos para avaliação da microcirculação coronariana são invasivos e aplicáveis apenas em estudos experimentais e, portanto, o desenvolvimento de métodos não invasivos desta microcirculação, é de grande importância. Ijzerman et al (114), empregando iontoforese de substâncias vasodilatadoras, observaram que pacientes com alto risco de desenvolvimento de doença coronariana possuíam uma taxa reduzida de vasodilatação dependente do endotélio na pele. A disfunção microvascular coronariana parece estar relacionada a um processo sistêmico de disfunção da microcirculação (207-209). Portanto, a avaliação da microcirculação cutânea poderia ser um modelo para estudar as relações entre a função microvascular e os fatores de risco para doença cardiovascular (114, 210).

No presente estudo, observamos uma tendência à redução da vasodilatação da microcirculação cutânea induzida pela administração de doses cumulativas de acetilcolina, através de iontoforese 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico. Estes dados, embora não tenham apresentado significância estatística, provavelmente devido ao reduzido número de pacientes, sugere uma diminuição da resposta endotelial a este estímulo no pós-operatório. A análise da condutância microvascular cutânea e a análise da área sob a curva de vasodilatação induzida pela acetilcolina apresentaram padrão semelhante de resposta.

Estratificando este resultado em quartis, de acordo com o tempo de CEC, observamos uma redução na resposta endotelial aos 28 dias de pós-operatório. Inclusive, a medição da área sob a curva foi praticamente idêntica neste momento,

em todos os tempos de CEC, sugerindo o alcance de um ponto de equilíbrio uniforme. A AUC dos pacientes em pré-operatório, mostrou heterogeneidade entre os “futuros” tempos de CEC, sendo representativamente menor naqueles pacientes que vieram a precisar de maior tempo de CEC, o que pode ser interpretado como sinal preditivo de gravidade. A repetição desta abordagem em um maior número de pacientes é fundamental para confirmar esta impressão. Lockowandt e Cereceda-Franco (211), no entanto, após avaliação de cirurgias cardiovasculares com e sem CEC, concluíram que a CEC causou maior disfunção endotelial nas artérias coronarianas, já que houve redução na resposta à acetilcolina, quando comparada com a cirurgia sem CEC. Quando utilizaram adenosina para avaliar a vasodilatação independente do endotélio, não foram demonstradas alterações entre estas modalidades cirúrgicas. Apesar da iontoforese de acetilcolina ser considerada um teste específico para a avaliação da função endotelial (109), esta resposta é atribuída a uma complexa interação entre vários fatores com importante relação com a função endotelial, como NO e prostaciclina, bem como a ativação de reflexos axonais (212, 213).

Analogamente, também realizamos a iontoforese de nitroprussiato de sódio, desta feita, para avaliação de vasodilatação independente do endotélio. Esta droga reage com grupamentos sulfidríla em condições fisiológicas para produzir NO diretamente e, com isto, promover o relaxamento direto da musculatura lisa vascular. Após a administração desta substância em doses cumulativas, houve um aumento do fluxo microvascular cutâneo diretamente proporcional à carga/ dose aplicada, porém, sem diferenças nos valores obtidos no pré-operatório e aos 7 e 28 dias após o procedimento cirúrgico. O mesmo ocorreu em relação à condutância vascular cutânea e ao cálculo da área sob a curva. Tais resultados demonstram que o procedimento cirúrgico ao qual os pacientes foram submetidos não causou alterações nos mecanismos de relaxamento vascular endotélio independente, traduzindo-se na manutenção da integridade dos vasos.

Quando os pacientes foram agrupados em quartis, de acordo com o tempo de CEC, observamos padrões díspares entre as diferentes condições, dificultando qualquer análise. Avaliamos que alguns artefatos de técnica podem ter contribuído para tanto, notadamente a instabilidade molecular do nitroprussiato de sódio (extremamente foto instável), a possibilidade de uso farmacológico de nitratos pelos

pacientes, bem como uma grande variabilidade intrínseca do método associada a um “n”pequeno.

No presente estudo também foi realizada avaliação da reatividade microvascular através da manobra de hiperemia cutânea induzida por aquecimento local prolongado (20 minutos). Essa manobra resulta em curva bifásica de vasodilatação cutânea, considerado por muitos autores como a vasodilatação máxima que pode ser obtida nesse território vascular (182). O pico inicial de vasodilatação (duração em torno de 5 minutos) seria devido exclusivamente a um reflexo axonal induzido pelo peptídeo relacionado com o gene de calcitonina (CGRP), enquanto que o platô tardio (últimos 15 minutos) seria devido essencialmente à liberação endotelial de NO (108, 182).

Nossos resultados mostraram que a vasodilatação induzida por calor foi mais pronunciada no pré-operatório do que aos 7 e 28 dias após a cirurgia. Tanto a análise da condutância microvascular cutânea máxima, quanto o pico máximo do calor corroboraram este achado, porém, não houve significância estatística. Estes resultados confirmam a tendência encontrada com a iontoforese da acetilcolina, de redução na resposta do endotélio no pós-operatório.

A análise da hiperemia reativa pós-oclusiva, por sua vez, não demonstrou alterações 7 dias após o procedimento em relação ao basal. Porém, após 28 dias, houve uma tendência ao aumento da condutância microvascular cutânea máxima, sem, no entanto, apresentar significância estatística. A resposta microvascular induzida pela hiperemia reativa pós-oclusiva é considerada, em parte, dependente do endotélio através do estresse de cisalhamento (214). Talvez, a recuperação endotelial no ponto mais tardio de pós-operatório por nós avaliado, tenha contribuído, ao menos em parte, por esta resposta.

Estudos recentes têm apontado correlação entre a rigidez aórtica e o grau de comprometimento coronariano através de estudos de coronariografia (215). Estes indicam que a pressão de pulso e a onda de pressão aórtica são preditores independentes dos eventos cardiovasculares (216, 217). Em nosso estudo, não encontramos alterações da rigidez arterial nem da onda de pressão refletida nos pontos abordados.

### 5.3 Avaliação da resposta inflamatória pós-operatória

Como já mencionado anteriormente, a doença aterosclerótica coronariana é uma síndrome complexa e sistêmica, que envolve mecanismos de diferentes naturezas, tais como respostas inflamatórias, que envolve componentes celulares e solúveis. Neste sentido, a análise multiplex que realizamos mostrou a elevação sérica de citocinas pró-inflamatórias, notadamente a IL-6 em pacientes em pré-operatório imediato.

Já foi demonstrado que citocinas pró-inflamatórias, tais como a IL-6 e IL-8, e anti-inflamatórias, como a IL-10, também podem ser ativadas pelo circuito da CEC (143). Estas são consideradas, por alguns, como importantes fatores causadores de complicações pós-operatórias significativas, como a síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS). Outros autores, no entanto, consideram a resposta imune uma resposta fisiológica à cirurgia e ao trauma tecidual, independente da CEC (218-220) e da lesão de reperfusão (136).

A IL-6 é uma citocina inflamatória produzida por células musculares lisas, células T e macrófagos e sua secreção é controlada por TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  e serve como marcador de intensidade da resposta inflamatória sistêmica (221). Esta é a principal mediadora da resposta da fase aguda, regulando a inflamação, induzindo a diferenciação das células B, ativando as células T e induzindo sua citotoxicidade e promovendo a diferenciação dos monócitos em macrófagos (222). A IL-6 pode funcionar como um depressor cardíaco e pode estar envolvida no miocárdio hibernante (*'stunned myocardium'*) (223). Segundo Kinugawa et al (224), a IL-6 produz uma redução mediada por óxido nítrico do fluxo do cálcio intracelular, causando depressão da contratilidade ventricular. Níveis elevados de IL-6 (>100pg/mL), bem como de IL-10 (>30pg/mL), após 12h de cirurgia, foram associados a um aumento significativo do risco de desenvolvimento de disfunção renal (222).

Em nosso trabalho, a IL-6 apresentou aumento significativo 7 dias após o procedimento cirúrgico em relação ao basal, com retorno próximo à linha de base ao final de 28 dias. A IL-8 também apresentou aumento significativo após 7 dias em relação ao basal. Após 28 dias houve queda desta citocina com retorno aos níveis basais. O TNF- $\alpha$  apresentou nível semelhante durante toda a análise. Risnes et al (145) avaliaram a cinética de produção destas citocinas no pós-operatório de



revascularização do miocárdio. Neste estudo, foram realizadas coletas de sangue ao final da cirurgia, 2, 24 e 48h e 14 e 21 dias após o procedimento. Estes autores demonstraram que a concentração sérica de IL-6 apresentou-se elevada ao final da cirurgia, com valores crescentes até 48h de pós-operatório, quando começou a cair e ao final de 21 dias, ainda mantinha-se elevado, com significância estatística. Segundo Franke et al (225), que também estudaram a cinética das interleucinas durante e após cirurgia cardíaca, a IL-6 e a IL-8 apresentaram aumento significativo ao final do procedimento e após 4 a 6 horas deste. O pico da IL-6 foi 4 a 6 horas após o procedimento e permaneceu elevado até o final do primeiro dia. Já a IL-8 apresentou um pico mais precoce, ao final da cirurgia e permaneceu elevado até o final do primeiro dia, quando iniciou seu declínio. A IL-8 também apresenta propriedades pró-inflamatórias e está relacionada ao aparecimento da síndrome da SIRS (226). Esta citocina também apresentou aumento ao final do procedimento. Após 24h já apresentava níveis em queda, atingindo concentrações semelhantes às basais ao final dos 21 dias. Todos estes dados são semelhantes aos encontrados em nosso estudo.

A IL-7 está relacionada ao processo inflamatório e à rejeição aos transplantes cardíacos. Sua deficiência, em seres humanos, resulta em linfopenia por redução do número de linfócitos T, com número normal de linfócitos B e células NK (227, 228). No presente estudo, não encontramos alterações significativas das concentrações séricas da IL-7 nos tempos avaliados.

Níveis elevados de TNF- $\alpha$  estão associados ao desenvolvimento de morbidade após CEC, incluindo complicações infecciosas e disfunção orgânica (229), estando correlacionado, assim como outras citocinas, à falência cardíaca em animais de experimentação (230). O TNF- $\alpha$  não foi detectado após 7 dias do procedimento em nosso estudo. Tal resultado está em acordo com o observado por Risnes et al (145), que observaram que a concentração desta substância apenas se manteve elevada até 2h após o procedimento, quando iniciou a sua queda. Estes resultados foram diferentes ao observado por Franke et al (225), que verificaram que o TNF- $\alpha$  apresentou-se elevado ao final da cirurgia até 4 a 6 horas do procedimento, quando iniciou uma queda.

A IL-10 apresenta propriedades anti-inflamatórias e é produzida por células T e B. Seu efeito ocorre pela redução da produção de citocinas pró-inflamatórias,

como a IL-6, moléculas de adesão e através da supressão das moléculas estimuladoras e apresentadoras de antígenos nos monócitos, macrófagos, neutrófilos e células T (222). A IL-10 é um importante supressor da resposta imune e, no choque séptico e em doenças infecciosas, é sintetizada posteriormente à produção de citocinas inflamatórias nos monócitos e linfócitos T, sugerindo um papel regulatório nas fases mais tardias da resposta imune (231, 232). Nos processos inflamatórios, o TNF- $\alpha$  é considerado um potente indutor da produção da IL-10 (233). Este fato, no entanto, não ocorreu com os pacientes submetidos à CEC, já que houve aumento marcante da IL-10 antes do moderado aumento da TNF- $\alpha$ , sugerindo que outros mecanismos poderiam estar envolvidos neste processo, como níveis elevados da prostaglandina E<sub>2</sub> e catecolaminas (234, 235). Em nosso estudo, a IL-10 não apresentou níveis detectáveis em todos os pontos de avaliação, ao contrário do estudo de Risnes et al (145), cuja concentração manteve-se elevada até os 21 dias de observação.

O IFN- $\gamma$  apresenta importante papel na regulação da resposta imune após o trauma cirúrgico. Este é sintetizado pelos linfócitos T helper (TH1) (236) e estimula a expressão dos antígenos de histocompatibilidade leucocitários (HLA-DR) e a produção da IL-12 por monócitos e macrófagos e inibe a produção da IL-4 e IL-5 por linfócitos TH2. Desta forma, auxilia na regulação do equilíbrio entre a resposta imune específica (linfócitos TH) e inespecífica (monócitos e macrófagos) (237, 238). O IFN- $\gamma$  possui importante papel na regulação da resposta imune após o trauma cirúrgico. A redução da síntese deste está relacionada à disfunção da resposta imune, predispondo a algumas complicações como a sepse (239, 240). Franke et al (241) observaram uma importante redução na concentração do IFN- $\gamma$  em pacientes submetidos à cirurgia cardiovascular. Neste trabalho, houve redução na concentração desta citocina nos dias 1, 3 e 5 após o procedimento cirúrgico. Em nosso trabalho, o IFN- $\gamma$  apenas apresentou níveis detectáveis na avaliação basal, não tendo sido observado nos demais pontos de avaliação.

O fator estimulante das colônias de granulócitos (G-CSF) foi avaliado em pacientes pediátricos submetidos à correção de anomalias congênitas por Sun et al (242). Estes autores observaram que a CEC promoveu aumento na concentração sérica desta substância e que esta era reduzida com o aumento da idade das crianças. Em nosso trabalho, os níveis de G-CSF foram maiores no pré-operatório, o

que pode estar relacionado com o estado inflamatório da doença coronariana. Houve nítida redução durante o pós-operatório, até um nível detectável, porém baixo, aos 28 dias.

A proteína C reativa (PCR) foi inicialmente descrita como uma substância que se liga ao polissacarídeo C da parede celular dos pneumococos. É uma substância produzida durante a fase aguda da inflamação por hepatócitos, após estímulos por citocinas, especialmente a IL-6 (243), e sua concentração pode aumentar até 100 vezes em 24-48 horas durante um processo inflamatório. Após estímulo agudo, a concentração da PCR sobe em 6 horas e atinge um pico em 48 horas. Esta pode promover disfunção endotelial através da indução de apoptose das células endoteliais, aumento da expressão da IL-6 e da endotelina -1 (243). O acompanhamento bioquímico da PCR-HS em nossas pacientes, mostrou um padrão compatível com a intensidade de inflamação, ou seja, níveis baixos na avaliação basal, elevados aos 7 dias de pós-operatório e menores, porém, elevados, aos 28 dias.

Dentre os demais parâmetros bioquímicos analisados, cabe destacar a elevação da CK e da GGT aos 7 dias (provavelmente secundários ao dano miocárdico por doença e/ ou trauma cirúrgico) e a elevada média das glicemias no pré e pós-operatório.

Finalmente, realizamos dosagens de nitritos/ nitratos plasmáticos (Nox), como marcadores de biodisponibilidade sistêmica de NO e, portanto, da função endotelial vascular. Apesar de termos constatados uma tendência à redução de Nox no pós-operatório, não houve significância estatística. Nossos resultados estão de acordo com os de outros autores, que observaram que a cirurgia realizada com o auxílio da CEC causa importante processo inflamatório sem, no entanto, causar alterações significativas da concentração plasmática de nitritos/nitratos (244, 245).

## 6 CONCLUSÕES

Em conjunto os resultados aqui apresentados nos permitem chegar as seguintes conclusões:

1) Embora o número de pacientes acessados tenha sido relativamente elevado (74), um alto índice de comorbidades e complicações reduziram sensivelmente este número. Além disto, problemas logísticos e de infraestrutura (como a falta de recursos financeiros dos pacientes para retornar às consultas), reduziram ainda mais a população de estudo (23), consistindo uma dificuldade para este ou outro trabalho do gênero;

2) A condutância vascular da microcirculação cutânea induzida pela acetilcolina (mecanismo endotélio dependente), bem como pelo nitroprussiato de sódio (endotélio independente) mostrou que ambos os mecanismos estavam presentes e atuantes, embora variassem nos pontos estudados;

3) A pequena diferença entre a AUC de iontoforese de acetilcolina entre os pacientes em pré-operatório e com 7 dias de pós-operatório (agrupados pelo tempo de CEC), aponta para uma minimização do impacto endotelial, secundário à CEC. Um valor constante deste dado entre todos os pacientes após 28 dias de cirurgia, independente do tempo em CEC, sugere uma completa recomposição fisiológica do endotélio neste momento;

4) A análise dos mecanismos de vasodilatação endotélio independente, através da iontoforese com nitroprussiato de sódio, estratificada pelo tempo de CEC, mostrou resultados difíceis de interpretar e possivelmente secundários a artefatos, demandando futura repetição do protocolo;

5) Os resultados obtidos pela hiperemia térmica e/ ou reativa pós-oclusiva corroboraram aqueles achados com a acetilcolina;

6) Dentre as citocinas estudadas, a IL-6 e a IL-8, demonstraram comportamento correlacionável ao da PCR-HS, refletindo a cinética inflamatória do pré e pós-operatório;

7) A redução da concentração plasmática de Nox no pós-operatório sugere uma diminuição da necessidade de produção de vasodilatação secundária ao quadro coronariano.

8) A rigidez arterial não apresentou alteração evolutiva, talvez pelo pouco tempo de pós-operatório avaliado.

9) A repetição desta avaliação em períodos tardios do pós operatório, seria importante para definir a real aplicabilidade deste parâmetro no acompanhamento de pacientes com insuficiência coronariana.

## REFERÊNCIAS

1. Rubanyi GM. The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1993; 22 Suppl 4:S1-14.
2. Drenckhahan D NW. *Vascular Endothelium. Physiology, Pathology and therapeutics opportunities.* Stuttgart: Schattauer-Verlag 1997.
3. Anderson RG. Caveolae: where incoming and outgoing messengers meet. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993; 90(23):10909-13.
4. Vanhoutte PM. How to assess endothelial function in human blood vessels. *J Hypertens.* 1999; 17(8):1047-58.
5. Loscalzo J, Welch G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Prog Cardiovasc Dis.* 1995; 38(2):87-104.
6. Taddei S, Ghiadoni L, Viridis A, Versari D, Salvetti A. Mechanisms of endothelial dysfunction: clinical significance and preventive non-pharmacological therapeutic strategies. *Curr Pharm Des.* 2003; 9(29):2385-402.
7. Brunner H, Cockcroft JR, Deanfield J, Donald A, Ferrannini E, Halcox J, et al. Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens.* 2005; 23(2):233-46.
8. Cooke JP, Tsao PS. Go with the flow. *Circulation.* 2001 12; 103(23):2773-5.
9. Miura H, Wachtel RE, Liu Y, Loberiza FR, Jr., Saito T, Miura M, et al. Flow-induced dilation of human coronary arterioles: important role of Ca(2+)-activated K(+) channels. *Circulation.* 2001; 103(15):1992-8.
10. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med.* 1986; 315(17):1046-51.
11. Asakura T, Karino T. Flow patterns and spatial distribution of atherosclerotic lesions in human coronary arteries. *Circ Res.* 1990; 66(4):1045-66.
12. Malek AM, Alper SL, Izumo S. Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. *Jama.* 1999; 282(21):2035-42.
13. Jalali S, Li YS, Sotoudeh M, Yuan S, Li S, Chien S, et al. Shear stress activates p60src-Ras-MAPK signaling pathways in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998; 18(2):227-34.
14. Feldman CL, Stone PH. Intravascular hemodynamic factors responsible for progression of coronary atherosclerosis and development of vulnerable plaque. *Curr Opin Cardiol.* 2000; 15(6):430-40.
15. Cooke JP, Tsao PS. Is NO an endogenous antiatherogenic molecule? *Arterioscler Thromb.* 1994; 14(5):653-5.
16. Baldwin AS, Jr. Series introduction: the transcription factor NF-kappaB and human disease. *J Clin Invest.* 2001; 107(1):3-6.

17. Tak PP, Firestein GS. NF-kappaB: a key role in inflammatory diseases. *J Clin Invest.* 2001; 107(1):7-11.
18. Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation.* 2001 17; 104(3):365-72.
19. Thurberg BL, Collins T. The nuclear factor-kappa B/inhibitor of kappa B autoregulatory system and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 1998;9(5):387-96.
20. Marx N, Sukhova GK, Collins T, Libby P, Plutzky J. PPARalpha activators inhibit cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *Circulation.* 1999 22;99(24):3125-31.
21. Marx N, Mackman N, Schonbeck U, Yilmaz N, Hombach V, Libby P, et al. PPARalpha activators inhibit tissue factor expression and activity in human monocytes. *Circulation.* 2001 16;103(2):213-9.
22. Dzau VJ. Vascular angiotensin pathways: a new therapeutic target. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1987;10 Suppl 7:S9-16.
23. Johnston CI. Franz Volhard Lecture. Renin-angiotensin system: a dual tissue and hormonal system for cardiovascular control. *J Hypertens Suppl.* 1992;10 (7):S13-26.
24. Kawano H, Do YS, Kawano Y, Starnes V, Barr M, Law RE, et al. Angiotensin II has multiple profibrotic effects in human cardiac fibroblasts. *Circulation.* 2000 14;101(10):1130-7.
25. Siragy H. Angiotensin II receptor blockers: review of the binding characteristics. *Am J Cardiol.* 1999 Nov 18;84(10A):3S-8S.
26. Nickenig G, Harrison DG. The AT(1)-type angiotensin receptor in oxidative stress and atherogenesis: part I: oxidative stress and atherogenesis. *Circulation.* 2002 22;105(3):393-6.
27. Biasucci LM, Vitelli A, Liuzzo G, Altamura S, Caligiuri G, Monaco C, et al. Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina. *Circulation.* 1996 1;94(5): 874-7.
28. Kacimi R, Long CS, Karliner JS. Chronic hypoxia modulates the interleukin-1beta-stimulated inducible nitric oxide synthase pathway in cardiac myocytes. *Circulation.* 1997 16;96(6):1937-43.
29. Torre-Amione G, Kapadia S, Lee J, Bies RD, Lebovitz R, Mann DL. Expression and functional significance of tumor necrosis factor receptors in human myocardium. *Circulation.* 1995 15;92(6):1487-93.
30. Smith SC, Allen PM. Neutralization of endogenous tumor necrosis factor ameliorates the severity of myosin-induced myocarditis. *Circ Res.* 1992;70(4): 856-63.
31. Matsumori A, Yamada T, Suzuki H, Matoba Y, Sasayama S. Increased circulating cytokines in patients with myocarditis and cardiomyopathy. *Br Heart J.* 1994;72(6):561-6.
32. Givertz MM, Sawyer DB, Colucci WS. Antioxidants and myocardial contractility: illuminating the "Dark Side" of beta-adrenergic receptor activation? *Circulation.* 2001 13;103(6):782-3.

33. Leitinger N. Oxidized phospholipids as modulators of inflammation in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*. 2003;14(5):421-30.
34. Li D, Mehta JL. Antisense to LOX-1 inhibits oxidized LDL-mediated upregulation of monocyte chemoattractant protein-1 and monocyte adhesion to human coronary artery endothelial cells. *Circulation*. 2000 27;101(25):2889-95.
35. Tsimikas S, Witztum JL. Measuring circulating oxidized low-density lipoprotein to evaluate coronary risk. *Circulation*. 2001 17;103(15):1930-2.
36. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation*. 1995 1;91(11):2844-50.
37. Li D, Mehta JL. Upregulation of endothelial receptor for oxidized LDL (LOX-1) by oxidized LDL and implications in apoptosis of human coronary artery endothelial cells: evidence from use of antisense LOX-1 mRNA and chemical inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(4):1116-22.
38. Kadokami T, Frye C, Lemster B, Wagner CL, Feldman AM, McTiernan CF. Anti-tumor necrosis factor-alpha antibody limits heart failure in a transgenic model. *Circulation*. 2001 4;104(10):1094-7.
39. Shah PK, Kaul S, Nilsson J, Cercek B. Exploiting the vascular protective effects of high-density lipoprotein and its apolipoproteins: an idea whose time for testing is coming, part I. *Circulation*. 2001 6;104(19):2376-83.
40. Mach F, Schonbeck U, Bonnefoy JY, Pober JS, Libby P. Activation of monocyte/macrophage functions related to acute atheroma complication by ligation of CD40: induction of collagenase, stromelysin, and tissue factor. *Circulation*. 1997 15;96(2):396-9.
41. Henn V, Slupsky JR, Grafe M, Anagnostopoulos I, Forster R, Muller-Berghaus G, et al. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature*. 1998 5;391(6667):591-4.
42. von Hundelshausen P, Weber KS, Huo Y, Proudfoot AE, Nelson PJ, Ley K, et al. RANTES deposition by platelets triggers monocyte arrest on inflamed and atherosclerotic endothelium. *Circulation*. 2001 3;103(13):1772-7.
43. Yeh ET, Anderson HV, Pasceri V, Willerson JT. C-reactive protein: linking inflammation to cardiovascular complications. *Circulation*. 2001 28;104(9):974-5.
44. Nicoletti A, Caligiuri G, Paulsson G, Hansson GK. Functionality of specific immunity in atherosclerosis. *Am Heart J*. 1999;138(5 Pt 2):S438-43.
45. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol*. 1986 1;136(7):2348-57.
46. Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, Mach F. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat Med*. 2000;6(12):1399-402.
47. Palinski W. Immunomodulation: a new role for statins? *Nat Med*. 2000;6(12):1311-2.
48. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2005 21;352(16):1685-95.



49. Wong ML, Xie B, Beatini N, Phu P, Marathe S, Johns A, et al. Acute systemic inflammation up-regulates secretory sphingomyelinase in vivo: a possible link between inflammatory cytokines and atherogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 18;97(15):8681-6.
50. Jiang XC, Paultre F, Pearson TA, Reed RG, Francis CK, Lin M, et al. Plasma sphingomyelin level as a risk factor for coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(12):2614-8.
51. Stern MP. Diabetes and cardiovascular disease. The "common soil" hypothesis. *Diabetes*. 1995;44(4):369-74.
52. Fuster V, Fayad ZA, Moreno PR, Poon M, Corti R, Badimon JJ. Atherothrombosis and high-risk plaque: Part II: approaches by noninvasive computed tomographic/magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol*. 2005 4;46(7):1209-18.
53. Schoenhagen P, Ziada KM, Vince DG, Nissen SE, Tuzcu EM. Arterial remodeling and coronary artery disease: the concept of "dilated" versus "obstructive" coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38(2):297-306.
54. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999 14;340(2):115-26.
55. Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, et al. Fibrin D-dimer and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis. *Circulation*. 2001 15;103(19):2323-7.
56. Mannucci PM. von Willebrand factor: a marker of endothelial damage? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18(9):1359-62.
57. Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med*. 1995 9;332(10):635-41.
58. Jensen JS, Feldt-Rasmussen B, Strandgaard S, Schroll M, Borch-Johnsen K. Arterial hypertension, microalbuminuria, and risk of ischemic heart disease. *Hypertension*. 2000;35(4):898-903.
59. Kalsner S. Cholinergic mechanisms in human coronary artery preparations: implications of species differences. *J Physiol*. 1985;358:509-26.
60. Vita JA, Treasure CB, Nabel EG, McLenachan JM, Fish RD, Yeung AC, et al. Coronary vasomotor response to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. *Circulation*. 1990;81(2):491-7.
61. Yvonne-Tee GB, Rasool AH, Halim AS, Rahman AR. Noninvasive assessment of cutaneous vascular function in vivo using capillaroscopy, plethysmography and laser-Doppler instruments: its strengths and weaknesses. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2006;34(4):457-73.
62. Panza JA, Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi AA. Role of endothelium-derived nitric oxide in the abnormal endothelium-dependent vascular relaxation of patients with essential hypertension. *Circulation*. 1993;87(5):1468-74.

63. Panza JA, Quyyumi AA, Callahan TS, Epstein SE. Effect of antihypertensive treatment on endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 1993;21(5):1145-51.
64. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, Jr., Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med*. 1990 5;323(1):22-7.
65. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992 7;340(8828):1111-5.
66. Corretti MC, Plotnick GD, Vogel RA. Technical aspects of evaluating brachial artery vasodilatation using high-frequency ultrasound. *Am J Physiol*. 1995;268(4 Pt 2):H1397-404.
67. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol*. 2002 16;39(2):257-65.
68. Zeiher AM, Drexler H, Saurbier B, Just H. Endothelium-mediated coronary blood flow modulation in humans. Effects of age, atherosclerosis, hypercholesterolemia, and hypertension. *J Clin Invest*. 1993;92(2):652-62.
69. Celermajer DS, Sorensen KE, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Deanfield JE. Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. *J Am Coll Cardiol*. 1994;24(2):471-6.
70. Gordon JB, Ganz P, Nabel EG, Fish RD, Zebede J, Mudge GH, et al. Atherosclerosis influences the vasomotor response of epicardial coronary arteries to exercise. *J Clin Invest*. 1989;83(6):1946-52.
71. Nabel EG, Selwyn AP, Ganz P. Large coronary arteries in humans are responsive to changing blood flow: an endothelium-dependent mechanism that fails in patients with atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 1990;16(2):349-56.
72. Williams JK, Adams MR, Klopfenstein HS. Estrogen modulates responses of atherosclerotic coronary arteries. *Circulation*. 1990;81(5):1680-7.
73. Lieberman EH, Gerhard MD, Uehata A, Walsh BW, Selwyn AP, Ganz P, et al. Estrogen improves endothelium-dependent, flow-mediated vasodilation in postmenopausal women. *Ann Intern Med*. 1994 15;121(12):936-41.
74. Creager MA, Cooke JP, Mendelsohn ME, Gallagher SJ, Coleman SM, Loscalzo J, et al. Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest*. 1990;86(1):228-34.
75. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, Bull C, Thomas O, Robinson J, et al. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation*. 1993;88(5 Pt 1):2149-55.

76. Zeiher AM, Schachinger V, Minners J. Long-term cigarette smoking impairs endothelium-dependent coronary arterial vasodilator function. *Circulation*. 1995 1;92(5):1094-100.
77. Celermajer DS, Adams MR, Clarkson P, Robinson J, McCredie R, Donald A, et al. Passive smoking and impaired endothelium-dependent arterial dilatation in healthy young adults. *N Engl J Med*. 1996 18;334(3):150-4.
78. Mark AL, Correia M, Morgan DA, Shaffer RA, Haynes WG. State-of-the-art-lecture: Obesity-induced hypertension: new concepts from the emerging biology of obesity. *Hypertension*. 1999;33(1 Pt 2):537-41.
79. Johnstone MT, Creager SJ, Scales KM, Cusco JA, Lee BK, Creager MA. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation*. 1993;88(6):2510-6.
80. Snell PG, Mitchell JH. Physical inactivity: an easily modified risk factor? *Circulation*. 1999 6;100(1):2-4.
81. Celermajer DS, Sorensen K, Ryalls M, Robinson J, Thomas O, Leonard JV, et al. Impaired endothelial function occurs in the systemic arteries of children with homozygous homocystinuria but not in their heterozygous parents. *J Am Coll Cardiol*. 1993;22(3):854-8.
82. Charakida M, Donald AE, Terese M, Leary S, Halcox JP, Ness A, et al. Endothelial dysfunction in childhood infection. *Circulation*. 2005 5;111(13):1660-5.
83. Fichtlscherer S, Rosenberger G, Walter DH, Breuer S, Dimmeler S, Zeiher AM. Elevated C-reactive protein levels and impaired endothelial vasoreactivity in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2000 29;102(9):1000-6.
84. Egashira K, Hirooka Y, Kai H, Sugimachi M, Suzuki S, Inou T, et al. Reduction in serum cholesterol with pravastatin improves endothelium-dependent coronary vasomotion in patients with hypercholesterolemia. *Circulation*. 1994;89(6):2519-24.
85. Murakami T, Mizuno S, Ohsato K, Moriuchi I, Arai Y, Nio Y, et al. Effects of troglitazone on frequency of coronary vasospastic-induced angina pectoris in patients with diabetes mellitus. *Am J Cardiol*. 1999 1;84(1):92-4, A8.
86. Hornig B, Maier V, Drexler H. Physical training improves endothelial function in patients with chronic heart failure. *Circulation*. 1996 15;93(2):210-4.
87. Treasure CB, Klein JL, Weintraub WS, Talley JD, Stillabower ME, Kosinski AS, et al. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*. 1995 23;332(8):481-7.
88. Waters D. Cholesterol lowering. Should it continue to be the last thing we do? *Circulation*. 1999 29;99(25):3215-7.
89. Esper RJ. The role of lipid-lowering therapy in multiple risk factor management. *Drugs*. 1998;56 Suppl 1:1-7; discussion 33.
90. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med*. 1997 3;336(14):973-9.

91. Ridker PM. Inflammation, infection, and cardiovascular risk: how good is the clinical evidence? *Circulation*. 1998 5;97(17):1671-4.
92. Levine GN, Frei B, Koulouris SN, Gerhard MD, Keaney JF, Jr., Vita JA. Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 1996 15;93(6):1107-13.
93. Gokce N, Keaney JF, Jr., Frei B, Holbrook M, Olesiak M, Zachariah BJ, et al. Long-term ascorbic acid administration reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 1999 29;99(25):3234-40.
94. Creager MA, Gallagher SJ, Girerd XJ, Coleman SM, Dzau VJ, Cooke JP. L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest*. 1992;90(4):1248-53.
95. Drexler H, Zeiher AM, Meinzer K, Just H. Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolaemic patients by L-arginine. *Lancet*. 1991 21-28;338(8782-8783):1546-50.
96. Clarkson P, Adams MR, Powe AJ, Donald AE, McCredie R, Robinson J, et al. Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilation in hypercholesterolemic young adults. *J Clin Invest*. 1996 15;97(8):1989-94.
97. Osterloh K, Gaehtgens P, Pries AR. Determination of microvascular flow pattern formation in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;278(4):H1142-52.
98. Struijker-Boudier HA, Crijns FR, Stolte J, van Essen H. Assessment of the microcirculation in cardiovascular disease. *Clin Sci (Lond)*. 1996;91(2):131-9.
99. Tibirica E, Rodrigues E, Cobas R, Gomes MB. Impairment of skin capillary recruitment precedes chronic complications in patients with type 1 diabetes. *Rev Diabet Stud*. 2007 Summer;4(2):85-8.
100. Tibirica E, Rodrigues E, Cobas RA, Gomes MB. Endothelial function in patients with type 1 diabetes evaluated by skin capillary recruitment. *Microvasc Res*. 2007;73(2):107-12.
101. Genzel-Boroviczeny O, Strotgen J, Harris AG, Messmer K, Christ F. Orthogonal polarization spectral imaging (OPS): a novel method to measure the microcirculation in term and preterm infants transcutaneously. *Pediatr Res*. 2002;51(3):386-91.
102. Groner W, Winkelmann JW, Harris AG, Ince C, Bouma GJ, Messmer K, et al. Orthogonal polarization spectral imaging: a new method for study of the microcirculation. *Nat Med*. 1999;5(10):1209-12.
103. Struijker-Boudier HA, Rosei AE, Bruneval P, Camici PG, Christ F, Henrion D, et al. Evaluation of the microcirculation in hypertension and cardiovascular disease. *Eur Heart J*. 2007;28(23):2834-40.
104. Henricson J, Tesselaar E, Persson K, Nilsson G, Sjoberg F. Assessment of microvascular function by study of the dose-response effects of iontophoretically applied drugs (acetylcholine and sodium nitroprusside)--methods and comparison with in vitro studies. *Microvasc Res*. 2007;73(2):143-9.

105. Caballero AE, Arora S, Saouaf R, Lim SC, Smakowski P, Park JY, et al. Microvascular and macrovascular reactivity is reduced in subjects at risk for type 2 diabetes. *Diabetes*. 1999 Sep;48(9):1856-62.
106. Alam TA, Seifalian AM, Baker D. A review of methods currently used for assessment of in vivo endothelial function. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2005;29(3):269-76.
107. Turner J, Belch JJ, Khan F. Current concepts in assessment of microvascular endothelial function using laser Doppler imaging and iontophoresis. *Trends Cardiovasc Med*. 2008;18(4):109-16.
108. Cracowski JL, Minson CT, Salvat-Melis M, Halliwill JR. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *Trends Pharmacol Sci*. 2006;27(9):503-8.
109. Gomes MB, Matheus AS, Tibirica E. Evaluation of microvascular endothelial function in patients with type 1 diabetes using laser-Doppler perfusion monitoring: which method to choose? *Microvasc Res*. 2008;76(2):132-3.
110. Rajappan K, Rimoldi OE, Dutka DP, Ariff B, Pennell DJ, Sheridan DJ, et al. Mechanisms of coronary microcirculatory dysfunction in patients with aortic stenosis and angiographically normal coronary arteries. *Circulation*. 2002 29;105(4):470-6.
111. Vanoverschelde JL, Vancrayenest D, Ay T, Peltier M, Pasquet A. Assessment of myocardial blood flow using myocardial contrast echocardiography. *Am J Cardiol*. 2002 18;90(10A):59J-64J.
112. Taylor AJ, Al-Saadi N, Abdel-Aty H, Schulz-Menger J, Messroghli DR, Friedrich MG. Detection of acutely impaired microvascular reperfusion after infarct angioplasty with magnetic resonance imaging. *Circulation*. 2004 4;109(17):2080-5.
113. Schwitter J, DeMarco T, Kneifel S, von Schulthess GK, Jorg MC, Arheden H, et al. Magnetic resonance-based assessment of global coronary flow and flow reserve and its relation to left ventricular functional parameters: a comparison with positron emission tomography. *Circulation*. 2000 13;101(23):2696-702.
114. RG IJ, de Jongh RT, Beijk MA, van Weissenbruch MM, Delemarre-van de Waal HA, Serne EH, et al. Individuals at increased coronary heart disease risk are characterized by an impaired microvascular function in skin. *Eur J Clin Invest*. 2003;33(7):536-42.
115. Nolan SP, Zacour R, Dammann JF. Reflections on the evolution of cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 1997;64(5):1540-3.
116. Laffey JG, Boylan JF, Cheng DC. The systemic inflammatory response to cardiac surgery: implications for the anesthesiologist. *Anesthesiology*. 2002;97(1):215-52.
117. Kollef MH, Wragge T, Pasque C. Determinants of mortality and multiorgan dysfunction in cardiac surgery patients requiring prolonged mechanical ventilation. *Chest*. 1995;107(5):1395-401.

118. Kirklin JK, Westaby S, Blackstone EH, Kirklin JW, Chenoweth DE, Pacifico AD. Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1983;86(6):845-57.
119. Pacifico AD, Digerness S, Kirklin JW. Acute alterations of body composition after open intracardiac operations. *Circulation.* 1970;41(2):331-41.
120. Smith EE, Naftel DC, Blackstone EH, Kirklin JW. Microvascular permeability after cardiopulmonary bypass. An experimental study. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1987;94(2):225-33.
121. Jansen NJ, van Oeveren W, van Vliet M, Stoutenbeek CP, Eysman L, Wildevuur CR. The role of different types of corticosteroids on the inflammatory mediators in cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1991;5(4):211-7.
122. Davies SW, Duffy JP, Wickens DG, Underwood SM, Hill A, Alladine MF, et al. Time-course of free radical activity during coronary artery operations with cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1993;105(6):979-87.
123. Takahashi T, Kunimoto F, Ichikawa H, Ishikawa S, Sato Y, Hasegawa Y, et al. Gastric intramucosal pH and hepatic venous oximetry after cardiopulmonary bypass in valve replacement patients. *Cardiovasc Surg.* 1996;4(3):308-10.
124. Martinez-Pellus AE, Merino P, Bru M, Canovas J, Seller G, Sapina J, et al. Endogenous endotoxemia of intestinal origin during cardiopulmonary bypass. Role of type of flow and protective effect of selective digestive decontamination. *Intensive Care Med.* 1997;23(12):1251-7.
125. Mollhoff T, Loick HM, Van Aken H, Schmidt C, Rolf N, Tjan TD, et al. Milrinone modulates endotoxemia, systemic inflammation, and subsequent acute phase response after cardiopulmonary bypass (CPB). *Anesthesiology.* 1999;90(1):72-80.
126. te Velthuis H, Jansen PG, Oudemans-van Straaten HM, Sturk A, Eijsman L, Wildevuur CR. Myocardial performance in elderly patients after cardiopulmonary bypass is suppressed by tumor necrosis factor. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1995;110(6):1663-9.
127. Berendes E, Mollhoff T, Aken HV, Erren M, Deng MC, Loick HM. Increased plasma concentrations of serum amyloid A: an indicator of the acute-phase response after cardiopulmonary bypass. *Crit Care Med.* 1997;25(9):1527-33.
128. Colman RW. Surface-mediated defense reactions. The plasma contact activation system. *J Clin Invest.* 1984;73(5):1249-53.
129. Downing SW, Edmunds LH, Jr. Release of vasoactive substances during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1992;54(6):1236-43.
130. Wachtfogel YT, Kucich U, Greenplate J, Gluszko P, Abrams W, Weinbaum G, et al. Human neutrophil degranulation during extracorporeal circulation. *Blood.* 1987;69(1):324-30.
131. Matata BM, Galinanes M. Cardiopulmonary bypass exacerbates oxidative stress but does not increase proinflammatory cytokine release in patients with diabetes compared with patients without diabetes: regulatory effects of exogenous nitric oxide. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2000;120(1):1-11.

132. Ohata T, Sawa Y, Kadoba K, Kagisaki K, Suzuki K, Matsuda H. Role of nitric oxide in a temperature dependent regulation of systemic vascular resistance in cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2000;18(3):342-7.
133. Faymonville ME, Pincemail J, Duchateau J, Paulus JM, Adam A, Deby-Dupont G, et al. Myeloperoxidase and elastase as markers of leukocyte activation during cardiopulmonary bypass in humans. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1991;102(2):309-17.
134. Menasche P, Haydar S, Peynet J, Du Buit C, Merval R, Bloch G, et al. A potential mechanism of vasodilation after warm heart surgery. The temperature-dependent release of cytokines. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994;107(1):293-9.
135. Steinberg JB, Kapelanski DP, Olson JD, Weiler JM. Cytokine and complement levels in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1993;106(6):1008-16.
136. Hennein HA, Ebba H, Rodriguez JL, Merrick SH, Keith FM, Bronstein MH, et al. Relationship of the proinflammatory cytokines to myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994;108(4):626-35.
137. Frering B, Philip I, Dehoux M, Rolland C, Langlois JM, Desmots JM. Circulating cytokines in patients undergoing normothermic cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994;108(4):636-41.
138. Haeffner-Cavaillon N, Roussellier N, Ponzio O, Carreno MP, Laude M, Carpentier A, et al. Induction of interleukin-1 production in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1989;98(6):1100-6.
139. Menasche P. The inflammatory response to cardiopulmonary bypass and its impact on postoperative myocardial function. *Curr Opin Cardiol.* 1995;10(6):597-604.
140. Ernofsson M, Thelin S, Siegbahn A. Monocyte tissue factor expression, cell activation, and thrombin formation during cardiopulmonary bypass: a clinical study. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1997;113(3):576-84.
141. Deng MC, Dasch B, Erren M, Mollhoff T, Scheld HH. Impact of left ventricular dysfunction on cytokines, hemodynamics, and outcome in bypass grafting. *Ann Thorac Surg.* 1996;62(1):184-90.
142. Sablotzki A, Welters I, Lehmann N, Menges T, Gorchach G, Dehne M, et al. Plasma levels of immunoinhibitory cytokines interleukin-10 and transforming growth factor-beta in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1997;11(4):763-8.
143. Wan S, DeSmet JM, Barvais L, Goldstein M, Vincent JL, LeClerc JL. Myocardium is a major source of proinflammatory cytokines in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1996;112(3):806-11.
144. Drabe N, Zund G, Grunenfelder J, Sprenger M, Hoerstrup SP, Bestmann L, et al. Genetic predisposition in patients undergoing cardiopulmonary bypass surgery is associated with an increase of inflammatory cytokines. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2001;20(3):609-13.

145. Risnes I, Ueland T, Lundblad R, Mollnes TE, Baksaas ST, Aukrust P, et al. Changes in the cytokine network and complement parameters during open heart surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2003;2(1):19-24.
146. Edmunds LH, Jr. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 1998;66(5 Suppl):S12-6; discussion S25-8.
147. Edmunds LH, Jr., Colman RW. Thrombin during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 2006;82(6):2315-22.
148. Valen G, Blomback M, Sellei P, Lindblom D, Vaage J. Release of von Willebrand factor by cardiopulmonary bypass, but not by cardioplegia in open heart surgery. *Thromb Res*. 1994 1;73(1):21-9.
149. Nijziel M, van Oerle R, van 't Veer C, van Pampus E, Lindhout T, Hamulyak K. Tissue factor activity in human monocytes is regulated by plasma: implications for the high and low responder phenomenon. *Br J Haematol*. 2001;112(1):98-104.
150. Maugeri N, Brambilla M, Camera M, Carbone A, Tremoli E, Donati MB, et al. Human polymorphonuclear leukocytes produce and express functional tissue factor upon stimulation. *J Thromb Haemost*. 2006;4(6):1323-30.
151. Hunt BJ, Parratt RN, Segal HC, Sheikh S, Kallis P, Yacoub M. Activation of coagulation and fibrinolysis during cardiothoracic operations. *Ann Thorac Surg*. 1998;65(3):712-8.
152. Arnoletti JP, Whitman GJ. Heparin-induced thrombocytopenia in coronary bypass surgery. *Ann Thorac Surg*. 1999;68(2):576-8.
153. Edes TE, Sunderrajan EV. Heparin-induced hyperkalemia. *Arch Intern Med*. 1985;145(6):1070-2.
154. Philippou H, Adami A, Davidson SJ, Pepper JR, Burman JF, Lane DA. Tissue factor is rapidly elevated in plasma collected from the pericardial cavity during cardiopulmonary bypass. *Thromb Haemost*. 2000;84(1):124-8.
155. Philippou H, Davidson SJ, Mole MT, Pepper JR, Burman JF, Lane DA. Two-chain factor VIIa generated in the pericardium during surgery with cardiopulmonary bypass : relationship to increased thrombin generation and heparin concentration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19(2):248-54.
156. Day JR, Taylor KM. The systemic inflammatory response syndrome and cardiopulmonary bypass. *Int J Surg*. 2005;3(2):129-40.
157. Khalil PN, Ismail M, Kalmar P, von Knobelsdorff G, Marx G. Activation of fibrinolysis in the pericardial cavity after cardiopulmonary bypass. *Thromb Haemost*. 2004;92(3):568-74.
158. Tabuchi N, de Haan J, Boonstra PW, van Oeveren W. Activation of fibrinolysis in the pericardial cavity during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1993;106(5):828-33.
159. Gram J, Janetzko T, Jespersen J, Bruhn HD. Enhanced effective fibrinolysis following the neutralization of heparin in open heart surgery increases the risk of post-surgical bleeding. *Thromb Haemost*. 1990 12;63(2):241-5.



160. Boyle EM, Jr., Lille ST, Allaire E, Clowes AW, Verrier ED. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: atherosclerosis. *Ann Thorac Surg.* 1997;63(3):885-94.
161. Ranucci M. The endothelial function in cardiac surgery. *Minerva Anesthesiol.* 2006;72(6):503-6.
162. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell.* 1994 28;76(2):301-14.
163. Cardigan RA, Mackie IJ, Machin SJ. Hemostatic-endothelial interactions: a potential anticoagulant role of the endothelium in the pulmonary circulation during cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 1997;11(3):329-36.
164. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology.* 2001;94(6):1133-8.
165. Ratliff NB, Young WG, Jr., Hackel DB, Mikat E, Wilson JW. Pulmonary injury secondary to extracorporeal circulation. An ultrastructural study. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1973 ;65(3):425-32.
166. Chenoweth DE, Hugli TE. Demonstration of specific C5a receptor on intact human polymorphonuclear leukocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1978;75(8):3943-7.
167. Butler J, Parker D, Pillai R, Westaby S, Shale DJ, Rocker GM. Effect of cardiopulmonary bypass on systemic release of neutrophil elastase and tumor necrosis factor. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1993;105(1):25-30.
168. Chung JH, Gikakis N, Rao AK, Drake TA, Colman RW, Edmunds LH, Jr. Pericardial blood activates the extrinsic coagulation pathway during clinical cardiopulmonary bypass. *Circulation.* 1996 1;93(11):2014-8.
169. DePalma L, Yu M, McIntosh CL, Swain JA, Davey RJ. Changes in lymphocyte subpopulations as a result of cardiopulmonary bypass. The effect of blood transfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1991;101(2):240-4.
170. Roth JA, Golub SH, Cukingnan RA, Brazier J, Morton DL. Cell-mediated immunity is depressed following cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1981;31(4):350-6.
171. Holloway DS, Summaria L, Sandesara J, Vagher JP, Alexander JC, Caprini JA. Decreased platelet number and function and increased fibrinolysis contribute to postoperative bleeding in cardiopulmonary bypass patients. *Thromb Haemost.* 1988 25;59(1):62-7.
172. Paparella D, Yau TM, Young E. Cardiopulmonary bypass induced inflammation: pathophysiology and treatment. An update. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2002;21(2):232-44.
173. Sims PJ, Faioni EM, Wiedmer T, Shattil SJ. Complement proteins C5b-9 cause release of membrane vesicles from the platelet surface that are enriched in the membrane receptor for coagulation factor Va and express prothrombinase activity. *J Biol Chem.* 1988 5;263(34):18205-12.
174. Larsen E, Celi A, Gilbert GE, Furie BC, Erban JK, Bonfanti R, et al. PADGEM protein: a receptor that mediates the interaction of activated platelets with neutrophils and monocytes. *Cell.* 1989 20;59(2):305-12.

175. Celi A, Pellegrini G, Lorenzet R, De Blasi A, Ready N, Furie BC, et al. P-selectin induces the expression of tissue factor on monocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 13;91(19):8767-71.
176. Weerasinghe A, Taylor KM. The platelet in cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 1998;66(6):2145-52.
177. Edmunds LH, Jr., Ellison N, Colman RW, Niewiarowski S, Rao AK, Addonizio VP, Jr., et al. Platelet function during cardiac operation: comparison of membrane and bubble oxygenators. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1982;83(6):805-12.
178. Despotis GJ, Goodnough LT. Management approaches to platelet-related microvascular bleeding in cardiothoracic surgery. *Ann Thorac Surg*. 2000;70(2 Suppl):S20-32.
179. Wan S, LeClerc JL, Vincent JL. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass: mechanisms involved and possible therapeutic strategies. *Chest*. 1997;112(3):676-92.
180. Opal SM. The host response to endotoxin, antilipoplysaccharide strategies, and the management of severe sepsis. *Int J Med Microbiol*. 2007;297(5):365-77.
181. Oudemans-van Straaten HM, Jansen PG, Hoek FJ, van Deventer SJ, Sturk A, Stoutenbeek CP, et al. Intestinal permeability, circulating endotoxin, and postoperative systemic responses in cardiac surgery patients. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 1996;10(2):187-94.
182. Gooding KM, Hannemann MM, Tooke JE, Clough GF, Shore AC. Maximum skin hyperaemia induced by local heating: possible mechanisms. *J Vasc Res*. 2006;43(3):270-7.
183. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Jr., Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2003 1;42(7):1149-60.
184. Blacher C, Ribeiro JP. [Coronary bypass without extracorporeal circulation. A technique in search of scientific evidence]. *Arq Bras Cardiol*. 2003;80(6):656-62.
185. Landmesser U, Drexler H. The clinical significance of endothelial dysfunction. *Curr Opin Cardiol*. 2005;20(6):547-51.
186. Hartmann M, Sucker C, Boehm O, Koch A, Loer S, Zacharowski K. Effects of cardiac surgery on hemostasis. *Transfus Med Rev*. 2006;20(3):230-41.
187. Celermajer DS. Endothelial dysfunction: does it matter? Is it reversible? *J Am Coll Cardiol*. 1997;30(2):325-33.
188. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003 1;23(2):168-75.
189. Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J*. 1999;138(5 Pt 2):S419-20.
190. Anderson TJ, Gerhard MD, Meredith IT, Charbonneau F, Delagrangé D, Creager MA, et al. Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Am J Cardiol*. 1995 23;75(6):71B-4B.

191. Perticone F, Ceravolo R, Pujia A, Ventura G, Iacopino S, Scozzafava A, et al. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Circulation*. 2001 10;104(2):191-6.
192. Cohn JN, Quyyumi AA, Hollenberg NK, Jamerson KA. Surrogate markers for cardiovascular disease: functional markers. *Circulation*. 2004 29;109(25 Suppl 1):IV31-46.
193. Husain S, Andrews NP, Mulcahy D, Panza JA, Quyyumi AA. Aspirin improves endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*. 1998 3;97(8):716-20.
194. Mercurio G, Zoncu S, Saiu F, Sarais C, Rosano GM. Effect of atorvastatin on endothelium-dependent vasodilation in postmenopausal women with average serum cholesterol levels. *Am J Cardiol*. 2002 1;90(7):747-50.
195. Vita JA, Keaney JF, Jr. Endothelial function: a barometer for cardiovascular risk? *Circulation*. 2002 6;106(6):640-2.
196. Farkas K, Kolossvary E, Jarai Z, Nemcsik J, Farsang C. Non-invasive assessment of microvascular endothelial function by laser Doppler flowmetry in patients with essential hypertension. *Atherosclerosis*. 2004;173(1):97-102.
197. de Jongh RT, Serne EH, RG IJ, Stehouwer CD. Microvascular function: a potential link between salt sensitivity, insulin resistance and hypertension. *J Hypertens*. 2007;25(9):1887-93.
198. Koitka A, Abraham P, Bouhanick B, Sigaudou-Roussel D, Demiot C, Saumet JL. Impaired pressure-induced vasodilation at the foot in young adults with type 1 diabetes. *Diabetes*. 2004;53(3):721-5.
199. Khan F, Elhadd TA, Greene SA, Belch JJ. Impaired skin microvascular function in children, adolescents, and young adults with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2000;23(2):215-20.
200. Morris SJ, Shore AC, Tooke JE. Responses of the skin microcirculation to acetylcholine and sodium nitroprusside in patients with NIDDM. *Diabetologia*. 1995;38(11):1337-44.
201. Serne EH, Stehouwer CD, ter Maaten JC, ter Wee PM, Rauwerda JA, Donker AJ, et al. Microvascular function relates to insulin sensitivity and blood pressure in normal subjects. *Circulation*. 1999 23;99(7):896-902.
202. Serne EH, de Jongh RT, Eringa EC, RG IJ, Stehouwer CD. Microvascular dysfunction: a potential pathophysiological role in the metabolic syndrome. *Hypertension*. 2007;50(1):204-11.
203. Binggeli C, Spieker LE, Corti R, Sudano I, Stojanovic V, Hayoz D, et al. Statins enhance postischemic hyperemia in the skin circulation of hypercholesterolemic patients: a monitoring test of endothelial dysfunction for clinical practice? *J Am Coll Cardiol*. 2003 2;42(1):71-7.
204. Buchthal SD, den Hollander JA, Merz CN, Rogers WJ, Pepine CJ, Reichek N, et al. Abnormal myocardial phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy in women with chest pain but normal coronary angiograms. *N Engl J Med*. 2000 r 23;342(12):829-35.
205. Liu PP, Mak S, Stewart DJ. Potential role of the microvasculature in progression of heart failure. *Am J Cardiol*. 1999 19;84(4A):23L-6L.

206. Wu KC, Zerhouni EA, Judd RM, Lugo-Olivieri CH, Barouch LA, Schulman SP, et al. Prognostic significance of microvascular obstruction by magnetic resonance imaging in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 1998 3;97(8):765-72.
207. Sax FL, Cannon RO, 3rd, Hanson C, Epstein SE. Impaired forearm vasodilator reserve in patients with microvascular angina. Evidence of a generalized disorder of vascular function? *N Engl J Med*. 1987 26;317(22):1366-70.
208. Lekakis JP, Papamichael CM, Vemmos CN, Voutsas AA, Stamatelopoulos SF, Mouloupoulos SD. Peripheral vascular endothelial dysfunction in patients with angina pectoris and normal coronary arteriograms. *J Am Coll Cardiol*. 1998 1;31(3):541-6.
209. Werner GS, Ferrari M, Richartz BM, Gastmann O, Figulla HR. Microvascular dysfunction in chronic total coronary occlusions. *Circulation*. 2001 4;104(10):1129-34.
210. Ijzerman RG, Stehouwer CD, de Geus EJ, Klufft C, Boomsma DI. The association between birth weight and plasma fibrinogen is abolished after the elimination of genetic influences. *J Thromb Haemost*. 2003;1(2):239-42.
211. Lockowandt U, Franco-Cereceda A. Off-pump coronary bypass surgery causes less immediate postoperative coronary endothelial dysfunction compared to on-pump coronary bypass surgery. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2001;20(6):1147-51.
212. Barac A, Campia U, Panza JA. Methods for evaluating endothelial function in humans. *Hypertension*. 2007;49(4):748-60.
213. Kim SW, Kim SC, Nam KC, Kang ES, Im JJ, Kim DW. A new method of screening for diabetic neuropathy using laser Doppler and photoplethysmography. *Med Biol Eng Comput*. 2008;46(1):61-7.
214. Pyke KE, Tschakovsky ME. The relationship between shear stress and flow-mediated dilatation: implications for the assessment of endothelial function. *J Physiol*. 2005 15;568(Pt 2):357-69.
215. Duprez DA, Cohn JN. Arterial stiffness as a risk factor for coronary atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*. 2007;9(2):139-44.
216. Wilkinson IB, MacCallum H, Rooijmans DF, Murray GD, Cockcroft JR, McKnight JA, et al. Increased augmentation index and systolic stress in type 1 diabetes mellitus. *Qjm*. 2000;93(7):441-8.
217. Sweitzer NK, Shenoy M, Stein JH, Keles S, Palta M, LeCaire T, et al. Increases in central aortic impedance precede alterations in arterial stiffness measures in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2007;30(11):2886-91.
218. Struber M, Cremer JT, Gohrbandt B, Hagl C, Jankowski M, Volker B, et al. Human cytokine responses to coronary artery bypass grafting with and without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*. 1999;68(4):1330-5.
219. Park SK, Brody JI, Wallace HA, Blakemore WS. Immunosuppressive effect of surgery. *Lancet*. 1971 9;1(7689):53-5.
220. Prondzinsky R, Knupfer A, Loppnow H, Redling F, Lehmann DW, Stabenow I, et al. Surgical trauma affects the proinflammatory status after cardiac surgery to a

- higher degree than cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2005;129(4):760-6.
221. Wang H, Vishnubhakat JM, Bloom O, Zhang M, Ombrellino M, Sama A, et al. Proinflammatory cytokines (tumor necrosis factor and interleukin 1) stimulate release of high mobility group protein-1 by pituicytes. *Surgery.* 1999;126(2):389-92.
222. Musleh GS, Datta SS, Yonan NN, Grotte GJ, Prendergast BA, Hasan RI, et al. Association of IL6 and IL10 with renal dysfunction and the use of haemofiltration during cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2009;35(3):511-4.
223. Finkel MS, Oddis CV, Jacob TD, Watkins SC, Hattler BG, Simmons RL. Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. *Science.* 1992 17;257(5068):387-9.
224. Kinugawa K, Takahashi T, Kohmoto O, Yao A, Aoyagi T, Momomura S, et al. Nitric oxide-mediated effects of interleukin-6 on  $[Ca^{2+}]_i$  and cell contraction in cultured chick ventricular myocytes. *Circ Res.* 1994;75(2):285-95.
225. Franke A, Lante W, Fackeldey V, Becker HP, Kurig E, Zoller LG, et al. Pro-inflammatory cytokines after different kinds of cardio-thoracic surgical procedures: is what we see what we know? *Eur J Cardiothorac Surg.* 2005;28(4):569-75.
226. Martinez-Comendador JM, Alvarez JR, Mosquera I, Sierra J, Adrio B, Carro JG, et al. Preoperative statin treatment reduces systemic inflammatory response and myocardial damage in cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2009;36(6):998-1005.
227. Giliani S, Mori L, de Saint Basile G, Le Deist F, Rodriguez-Perez C, Forino C, et al. Interleukin-7 receptor alpha (IL-7Ralpha) deficiency: cellular and molecular bases. Analysis of clinical, immunological, and molecular features in 16 novel patients. *Immunol Rev.* 2005;203:110-26.
228. Puel A, Ziegler SF, Buckley RH, Leonard WJ. Defective IL7R expression in T(-) B(+)NK(+) severe combined immunodeficiency. *Nat Genet.* 1998;20(4):394-7.
229. Borger MA, Rao V, Weisel RD, Ivanov J, Cohen G, Scully HE, et al. Deep sternal wound infection: risk factors and outcomes. *Ann Thorac Surg.* 1998;65(4):1050-6.
230. Damas JK, Gullestad L, Aukrust P. Cytokines as new treatment targets in chronic heart failure. *Curr Control Trials Cardiovasc Med.* 2001;2(6):271-7.
231. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol.* 2001;19:683-765.
232. Opal SM, Wherry JC, Grint P. Interleukin-10: potential benefits and possible risks in clinical infectious diseases. *Clin Infect Dis.* 1998;27(6):1497-507.
233. van der Poll T, Jansen J, Levi M, ten Cate H, ten Cate JW, van Deventer SJ. Regulation of interleukin 10 release by tumor necrosis factor in humans and chimpanzees. *J Exp Med.* 1994 1;180(5):1985-8.
234. Shinomiya S, Naraba H, Ueno A, Utsunomiya I, Maruyama T, Ohuchida S, et al. Regulation of TNFalpha and interleukin-10 production by prostaglandins I(2)

- and E(2): studies with prostaglandin receptor-deficient mice and prostaglandin E-receptor subtype-selective synthetic agonists. *Biochem Pharmacol.* 2001 1;61(9):1153-60.
235. van der Poll T, Coyle SM, Barbosa K, Braxton CC, Lowry SF. Epinephrine inhibits tumor necrosis factor-alpha and potentiates interleukin 10 production during human endotoxemia. *J Clin Invest.* 1996 1;97(3):713-9.
236. Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. Cytokine signaling--regulation of the immune response in normal and critically ill states. *Crit Care Med.* 2000;28(4 Suppl):N3-12.
237. Zedler S, Bone RC, Baue AE, von Donnersmarck GH, Faist E. T-cell reactivity and its predictive role in immunosuppression after burns. *Crit Care Med.* 1999;27(1):66-72.
238. Spolarics Z, Siddiqi M, Siegel JH, Garcia ZC, Stein DS, Denny T, et al. Depressed interleukin-12-producing activity by monocytes correlates with adverse clinical course and a shift toward Th2-type lymphocyte pattern in severely injured male trauma patients. *Crit Care Med.* 2003;31(6):1722-9.
239. Fink R, Al-Obaidi M, Grewal S, Winter M, Pepper J. Monocyte activation markers during cardiopulmonary bypass. *Perfusion.* 2003;18(2):83-6.
240. Allen ML, Peters MJ, Goldman A, Elliott M, James I, Callard R, et al. Early postoperative monocyte deactivation predicts systemic inflammation and prolonged stay in pediatric cardiac intensive care. *Crit Care Med.* 2002;30(5):1140-5.
241. Franke A, Lante W, Kurig E, Zoller LG, Weinhold C, Markewitz A. Is interferon gamma suppression after cardiac surgery caused by a decreased interleukin-12 synthesis? *Ann Thorac Surg.* 2006;82(1):103-9.
242. Sun Y, Yi D, Wang Y, Zheng R, Sun G, Wang J, et al. Age-dependent mobilization of circulating endothelial progenitor cells in infants and young children undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Cytokine.* 2009;47(3):206-13.
243. Abi-Saleh B, Iskandar SB, Elgharib N, Cohen MV. C-reactive protein: the harbinger of cardiovascular diseases. *South Med J.* 2008;101(5):525-33.
244. Viaro F, Baldo CF, Capellini VK, Celotto AC, Bassetto S, Rodrigues AJ, et al. Plasma nitrate/nitrite (NOx) is not a useful biomarker to predict inherent cardiopulmonary bypass inflammatory response. *J Card Surg.* 2008 Jul-;23(4):336-8.
245. Brett SJ, Quinlan GJ, Mitchell J, Pepper JR, Evans TW. Production of nitric oxide during surgery involving cardiopulmonary bypass. *Crit Care Med.* 1998;26(2):272-8.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)