

Ativação do Sistema Complemento Causada pela Circulação Extracorpórea em Crianças Submetidas à Cirurgia Cardíaca*

Sérgio B Tenório, TSA¹; Iara Taborda de Messias²; Renato M Nisihara³

Tenório SB, Messias IT, Nisihara RM - Complement cascade activation due to cardiopulmonary bypass in children undergoing heart surgery

Complement activation was studied in 10 children undergoing heart surgery with (group 1) and in 9 children undergoing heart surgery without cardiopulmonary bypass (group 2). Children with infectious disease and under corticotherapy as well as those with immunological disease were excluded. Cardiopulmonary bypass was performed with bubble oxygenators, primed with blood and crystalloid. Blood samples were drawn at the beginning of the operation and approximately 15 minutes before skin closure. Plasma concentrations of the third component factor (C3) and of its split product C3d were measured in all patients. C3 levels were expressed in mg/dl and C3d levels were expressed as a percentage of a normal control value. Plasma concentrations of C3 decreased significantly in group 1 (84.814.7 mg/dl and 34,28.2 mg/dl; p=0.007) and remained unchanged in group 2 (9111.9 mg/dl and 85.913.4 mg/dl; p=0.13-NS). Plasma concentrations of C3d rose significantly in group 1 (12928.5 and 33867.5; p=0,005) but remained unchanged in group 2 (8615.1 and 9321.3; p=0.10-NS). We concluded that the third component of the complement system C3 was consumed during the cardiopulmonary bypass and that this consumption was due to activation.

Key Words: COMPLEMENT SYSTEM: activation; COMPLICATIONS: Allergy; SURGERY: cardiac

A circulação extracorpórea (CEC) é um procedimento que visa substituir temporariamente a função do coração e dos pulmões, permitindo intervenções cirúrgicas no interior do coração e no interior dos grandes vasos¹. O equipamento da CEC é composto do oxigenador, substituto da função de troca gasosa do pulmão, e de uma bomba, constituída por um rolete que ao comprimir um tubo maleável de plástico, impulsiona o sangue arterializado até

o organismo². Durante a CEC o oxigenador é preenchido com solução cristalóide e/ou colóide (perfusato) que se misturará ao sangue do paciente³.

A participação da Circulação Extracorpórea (CEC) no aumento da morbidade e mortalidade nas cirurgias cardíacas é conhecida desde a primeira cirurgia com o coração aberto⁴.

Gibbon, pouco tempo após ter realizado a primeira operação com auxílio da CEC, identificava a insuficiência respiratória como a principal e mais grave alteração funcional do período pós-operatório⁵. Dodrill⁶, na abertura de um dos primeiros congressos sobre a CEC, na década de 50, afirmava: "É desencorajador realizar operações com o coração aberto e ver o paciente evoluir em excelentes condições durante todo o procedimento, por um dia ou dois, para, finalmente sucumbir à insuficiência pulmonar, enquanto o coração permanece forte até o final". Outros relatos desta época estimavam que 15 a

* Trabalho realizado no Hospital Infantil Pequeno Príncipe, filiado ao CET da Santa Casa de Misericórdia de Curitiba e no Laboratório de Imonopatologia do Hospital de Clínicas da UFPR

1 Anestesiologista

2 Prof Adjunto da Disciplina de Patologia Clínica da UFPR e Chefe do Laboratório de Imonopatologia do Hosp. de Clínicas da UFPR

3 Farmacêutico Bioquímico do Laboratório de Imonopatologia do Hosp. de Clínicas da UFPR

Correspondência para Sérgio B Tenório

R Dr Aluizio França 264
80710-410 Curitiba - PR

Apresentado em 18 de outubro de 1993

Aceito para publicação em 16 de novembro de 1993

© 1993, Sociedade Brasileira de Anestesiologia

25% de todos os pacientes apresentavam algum tipo de complicação pulmonar após a CEC^{7,8}.

Estas complicações caracterizavam-se por insuficiência respiratória progressiva, baixa complacência do pulmão, alterações nas provas de função pulmonar, hemorragia alveolar, hipoxemia e freqüentemente óbito. Não eram raras porém as disfunções renais, do sistema nervoso central, e da coagulação. Este conjunto de disfunções foi definido por vários autores como "síndrome de pós-perfusão"^{6,9-15}.

O sistema complemento é um importante componente da resposta imunológica do organismo. É composto aproximadamente de 30 proteínas que normalmente encontram-se inativas no soro mas que podem ser ativadas "em cascata" sempre que o organismo estiver sendo ameaçado por agentes agressores. O produto final e os produtos intermediários resultantes de sua ativação exercem funções importantes no processo inflamatório¹⁶.

As principais proteínas do complemento são denominadas pela letra C (C1 até C9). Alguns componentes são designados por nomes convencionais como fator B, properdina e Fator D. Os fragmentos resultantes da ativação são designados por letras do alfabeto (ex: C3d, C5a). O produto final é chamado complexo lítico de membrana ou C5b9¹⁷.

A participação do sistema complemento na síndrome de pós perfusão foi proposta à partir da década de 70¹⁸. Muitos estudos posteriores confirmaram que os pacientes submetidos à CEC apresentavam ativação do sistema complemento, o que reforçou a suspeita de que muitas das alterações vistas na síndrome de pós perfusão seriam devidas à reação inflamatória global do organismo¹⁹⁻²³.

Entre as possíveis causas da ativação do complemento está a exposição do sangue às superfícies não endoteliais encontradas no circuito da CEC²⁴⁻²⁷.

Os oxigenadores de bolhas disponíveis necessitam preenchimento com volume de perfusato que varia de 600 ml (oxigenador infantil)

a 2000 ml (oxigenador adulto). A área interna dos modelos destinados às crianças e adultos têm valores parecidos. Logo o sangue, nos pacientes pediátricos, está exposto, durante a perfusão, ao contato com uma área não endotelial proporcionalmente maior que no adulto. Por esta razão seria lógico supor existirem diferenças entre adultos e crianças submetidas à CEC, em relação a ativação do complemento. Inexistem no entanto na literatura, trabalhos avaliando apenas crianças.

O objetivo deste trabalho é avaliar a ativação do complemento em crianças submetidas à CEC, com oxigenadores de bolhas, através da dosagem do componente do complemento C3, e de seu fragmento C3d.

METODOLOGIA

Após aprovação pela comissão de ética da instituição foram estudadas prospectivamente 19 crianças submetidas à correção de cardiopatias congênitas. As crianças foram divididas em dois grupos: grupo 1 formado por 10 crianças operadas com auxílio de CEC, com oxigenadores de bolhas infantil e grupo 2 formado por 9 crianças operadas sem auxílio de CEC. Foram excluídas os pacientes com doenças autoimunes, com infecção e sob corticoterapia.

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

Tabela I - Grupo 1: Operações realizadas no grupo 1 (com auxílio de circulação extra-corpórea)

| Paciente | correção cirúrgica | idade (meses) | duração da perfusão (minutos) |
|----------|--------------------|---------------|-------------------------------|
| 01 | TF | 12 | 70 |
| 02 | CIV | 22 | 73 |
| 03 | CIV e CIA | 48 | 41 |
| 04 | TF | 19 | 71 |
| 05 | CAVT | 15 | 110 |
| 06 | CIA | 46 | 30 |
| 07 | CIV | 18 | 68 |
| 08 | CIA | 36 | 60 |
| 09 | JAP | 6 | 31 |
| 10 | CIA | 60 | 33 |

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

Tabela II - Operações realizadas no grupo 2 (sem auxílio de CEC)

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

Como drogas anestésicas foram utilizadas o fentanil, brometo de pancurônio, halotano ou isoflurano e óxido nitroso. No grupo 1 foi empregado o oxigenador de bolhas infantil (Macchi Engenharia Biomédica Ltda), descartável, com reservatório de 600 ml, construído em termoplástico biocompatível e esterilizado em óxido de etileno.

O circuito da CEC foi preenchido com concentrado de hemácias e solução de Ringer lactato conforme protocolo do serviço. A anticoagulação durante a CEC foi obtida com heparina (Roche) na dose inicial de 3 mg/kg e monitorizada pelo tempo de coagulação ativada (TCA). No final da perfusão a heparina foi revertida com cloridrato de protamina (Roche) até o TCA atingir valores próximos ao inicial.

Imediatamente após a indução da anestesia e no final da operação, foram colhidas amostras de 10 ml de sangue em tubos contendo EDTA (ethylenediamine tetracetic acid - substância que impede a conversão do sistema complemento) que, após centrifugadas, foram armazenadas a -70°C para posterior análise.

O componente C3 do complemento foi dosado pela técnica de imunodifusão radial (Nor-Partigen, Behring Institut, Alemanha). O fragmento de C3, C3d, foi dosado pela técnica descrita por Brandslund e cols²⁸, conhecida como imunoeletroforese quantitativa em duplo foguete.

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

RESULTADOS

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

Os resultados de C3 estão expressos em mg/dl.

A análise dos níveis de C3 mostrou ter havido um evidente consumo deste componente no grupo de pacientes submetidos à CEC (grupo 1), sendo que a média obtida na 1ª amostra (antes da operação) foi de $84,8 \pm 14,7$ mg/dl e a obtida na 2ª amostra foi de $34,2 \pm 8,2$ mg/dl. Esta diferença é estatisticamente significativa ($p=0,007$). A ativação do complemento neste grupo de pacientes foi confirmado pelo aumento significativo nos níveis de C3d na amostra obtida após a CEC: 1ª amostra $129 \pm 28,5$ e 2ª amostra $338 \pm 67,5$ ($p=0,005$) (tabela III).

Tabela III - Níveis de C3 e de seu fragmento C3d no grupo 1

| Grupo 1 | Variável | Média (DP) | VM | VMX | valor de p |
|------------------------|----------|-------------|------|------|------------|
| C3d % do normal | | | | | |
| 1ª amostra | | 129 (28,5) | 100 | 180 | |
| 2ª amostra | | 338 (67,5) | 230 | 500 | 0,005 |
| C3 mg/dl | | | | | |
| 1ª amostra | | 84,8 (14,7) | 70,5 | 116 | |
| 2ª amostra | | 34,2 (8,2) | 16,4 | 45,9 | 0,007 |

DP: desvio padrão; VM: valores mínimos; VMX: valores máximos
Diferença significativa entre as duas amostras para os dois atributos medidos: C3d e C3 (teste de Wilcoxon).

Os pacientes submetidos à cirurgia cardíaca sem o auxílio da CEC não apresentaram redução estatisticamente significativa nos níveis de C3: 1ª amostra $91 \pm 11,9$ e 2ª amostra $85,9 \pm 13,4$ ($p=0,13$ -NS), nem tampouco alteração nos valores de C3d: 1ª amostra $86 \pm 15,1$ e 2ª amostra $93 \pm 21,3$ ($p=0,10$ -NS) (tabela IV).

Tabela IV - Níveis de C3 e do fragmento C3d no grupo 2

| Grupo 2 | Variável | Média (DP) | VM | VMX | valor de p |
|------------------------|----------|------------|------|-----|------------|
| C3d % do normal | | | | | |
| 1ª amostra | 86 | (15,1) | 62 | 113 | |
| 2ª amostra | 93 | (21,3) | 68 | 131 | 0,10(NS) |
| C3 mg/dl | | | | | |
| 1ª amostra | 91 | (11,9) | 74 | 107 | |
| 2ª amostra | 85,9 | (13,4) | 70,5 | 111 | 0,13(NS) |

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

NS- não significativo

Não houve diferença entre as duas amostras para os dois atributos medidos (teste de Wilcoxon).

DISCUSSÃO

A proteína C3 é o componente central da seqüência de ativação do complemento, possui a mais alta concentração plasmática e é comum à ambas as vias, clássica e alternativa²⁹. De sua conversão resulta C3b que, uma vez metabolizado, produz dois outros fragmentos: C3c e C3d. O primeiro é rapidamente catabolizado e desaparece da circulação. Já o metabolismo do C3d é relativamente lento e como resultado de seu baixo peso molecular atinge o plasma em curto espaço de tempo, a partir da difusão dos locais extravasculares onde foi ativado³⁰. Desta forma a determinação das concentrações plasmáticas de C3d e de C3 constitui um método extremamente útil e adequado para se avaliar a ativação do complemento *in vivo*³¹.

O presente trabalho demonstrou que as crianças submetidas à cirurgia cardíaca apresentaram consumo de C3 após a CEC. Demonstrou ainda que esta redução foi conseqüência de ativação e não de simples desnaturação protéica, porque os níveis de C3d aumentaram significativamente no mesmo período.

Outros trabalhos realizados em pacientes adultos, com oxigenadores de bolhas de marcas diferentes e sem empregarem sangue homólogo no perfusato, encontraram resultados muitos semelhantes aos deste estudo: aumento de 200 a 300% nos níveis de C3d, sugerindo o mesmo grau de ativação do complemento^{29,31,32}. Como o sangue nas crianças

está exposto a uma maior área de contato com as superfícies não endoteliais dos oxigenadores e tubos, estes resultados sugerem que outros fatores, que afetam igualmente crianças e adultos, devam ter maior importância que o contato do sangue com as superfícies não naturais dos equipamentos de CEC. De fato, muitos estudos demonstram que o uso da protamina para neutralizar a heparina, após o final da CEC, é um fator importante na ativação do complemento³³⁻³⁶. A utilização na CEC de tubos e oxigenadores revestidos com heparina, que dispensa a neutralização da heparina pela protamina, conseguiu evitar ou ativar o complemento em menor intensidade³⁷⁻³⁸. Autores sugerem que a interação heparina-protamina funcionaria como o complexo antígeno-anticorpo, sabidamente a principal causa de ativação do complemento *in vivo*³⁶. Outro fator capaz de ativar o complemento é o contato direto do sangue com o oxigênio, método empregado nos oxigenadores de bolhas para a oxigenação do sangue^{2,4}. No entanto, estudos utilizando oxigenadores de membrana, onde não ocorre este contato direto, não demonstraram resultados diferentes aos encontrados com os oxigenadores de bolhas, com relação a ativação do complemento³⁹⁻⁴⁰.

Passados 40 anos desde a introdução da CEC na prática clínica, é visível a evolução que aconteceu no campo da cirurgia cardíaca. A CEC se tornou muito mais segura, surgiram melhores materiais, os custos se reduziram e ficou possível a utilização de material descartável. No entanto, os dados deste estudo e aqueles da literatura demonstram que a CEC ainda é vista pelo organismo, tanto da criança quanto do adulto, como um agente agressor, porque o sistema complemento, um de seus principais meios de defesa, é acionado na maioria das vezes em que ela é utilizada. As complicações vistas hoje são certamente menos graves e menos freqüentes que aquelas das primeiras perfusões, mas ainda são responsáveis, em muitos casos, por um período pós-operatório mais prolongado e doloroso para o

paciente, e que pode alterar o resultado de uma correção cirúrgica adequada.

Tenório SB, Messias IT, Nisihara RM- Ativação do Sistema Complemento Causada pela Circulação Extracorpórea em Crianças Submetidas à Cirurgia Cardíaca

Com o objetivo de avaliar a ativação do sistema complemento em crianças submetidas a operações do coração com Circulação Extracorpórea (CEC) com oxigenadores de bolhas, foram estudadas 19 crianças divididas em dois grupos: grupo 1 constituído por 10 crianças submetidas a operações cardíacas com CEC e grupo 2 constituído por 9 crianças submetidas a operações cardíacas sem CEC. Foram excluídas as crianças sob corticoterapia, as portadoras de doenças autoimunes ou de infecção. A CEC foi realizada com oxigenadores de bolhas infantil, com reservatório de 600 ml. Foram analisadas duas amostras de sangue de cada paciente: uma colhida no início e outra no final da operação. Todas as amostras foram armazenadas a -70°C para posterior análise. A ativação do complemento foi avaliada pela dosagem sanguínea dos níveis de C3 e de seu fragmento C3d. Os níveis de C3 foram expressos em mg/dl e os níveis de C3d em percentagem de valores controle de soros de indivíduos normais. No grupo 1 os resultados da 1ª e 2ª amostras foram, respectivamente: C3= $84,8 \pm 14,7$ e $34,2 \pm 8,2$ ($p=0,007$); C3d= $129 \pm 28,5$ e $338 \pm 67,5$ ($p=0,005$). Para o grupo 2 os resultados da 1ª e 2ª amostras foram respectivamente: C3= $91 \pm 11,9$ e $85,9 \pm 13,4$ ($p=0,13$ NS); C3d= $86 \pm 15,1$ e $93 \pm 21,3$ ($p=0,10$ -NS). Estes resultados mostram ter havido consumo do complemento no grupo 1 e que este consumo foi devido à ativação. Nas criança submetidas a operações sem auxílio da CEC não houve consumo ou ativação do sistema complemento.

Unitermos: CIRURGIA: Cardíaca; pediátrica; COMPLICAÇÕES: Alergia; SISTEMA COMPLEMENTO: ativação;

Tenório SB, Messias IT, Nisihara RM- Activación del Sistema Complemento Causado por la Circulación en Niños Sometidos a Cirugía Cardíaca

Con la finalidad de evaluar la activación del sistema complemento en niños sometidos a operaciones del corazón con circulación extracorporeal (CEC) con oxigenadores de burbujas, se estudiaron 19 niños divididos en dos grupos: grupo 1 constituído por 10 niños sometidos a operaciones cardíacas con CEC y grupo 2 constituído por 9 niños sometidos a operaciones cardíacas sin CEC. Se excluyeron los niños bajo corticoterapia, los portadores de enfermedades autoinmunes o de infección. La CEC se realizó con oxigenadores de burbujas infantil con reservatorio de 600 ml. Se analizaron dos muestras de sangre de cada paciente; una recolectada al comenzar la operación y la otra al terminala. Todas las muestras se almacenaron a -70°C para posterior análisis. La activación del complemento se evaluó por la dosificación sanguínea de los niveles de C3 y de su fracción C3d. Los niveles de C3 se expresaron en mg/dl y los de C3d en porcentaje de valores controles de sueros de individuos normales. En el grupo 1 los resultados de la 1ª y 2ª muestra fueron, respectivamente: C3= $84,8 \pm 14,7$ y $34,2 \pm 8,2$ ($p= 0,007$); C3d= $129 \pm 28,5$ y $338 \pm 67,5$ ($p= 0,005$). Para el grupo 2 los resultados fueron respectivamente: C3= $91 \pm 11,9$ y $85,9 \pm 13,4$ ($p= 0,13$ -NS); C3d= $86 \pm 15,1$ y $93 \pm 21,3$ ($p= 0,10$ -NS). Estos resultados muestran que hubo un consumo de complemento en el grupo 1 y que este fue debido a la activación. En los niños sometidos a operaciones sin el auxilio de la CEC no hubo consumo o activación del Sistema Complemento.

REFERÊNCIAS

01. Lake LG, Schwartz AJ, Campbell FW - Extracorporeal Circulation. In: Lake, CL Pediatric Cardiac Anesthesia. Appleton & Lange, Norwalk 1a ed, 1988; 155-180.
02. Tinker JH, Roberts SL - Management of Cardiopulmonary Bypass. In Kaplan J Cardiac Anesthesia Vol 2, 2a ed New York, G&S, 1987; 895-926.
03. Tobias MA - Choice of Priming Fluids. In: Taylor, K.M. Cardio-pulmonary Bypass. Chapman and Hall, London, 1985; 221-248.

04. Westaby S - Organ dysfunction after cardiopulmonary bypass. A systemic inflammatory reaction initiated by the extracorporeal circuit. *Intens Care Med* 1987; 13: 89-95.
05. Gibbon JH - The Lewis A. Conner Memorial Lecture. Maintenance of Cardiorespiratory Functions By Extracorporeal Circulation. *Circulation*, 1959; 9: 646-655.
06. Westaby S - Complement and damaging effects of cardiopulmonary bypass. *Thorax* 1983; 38: 321-325.
07. Howatt WF, Talner NS, Sloan H et al - Pulmonary Function Changes Following Repair of Heart Lesions with the Aid of Extracorporeal Circulation. *J Thoracic Cardiovasc Surg* 1962; 43: 649-657.
08. Osborn JJ - Respiratory Insufficiency following open heart surgery. *Ann Surg* 1962; 156: 638.
09. Abel RM, Buckley MJ, Austen WG et al - Aetiology, incidence and prognosis of renal failure following cardiac operation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1976; 71: 323-333.
10. Abel RM, Wick J, Beck CH et al - Renal failure following open heart operation. *Arch Surg* 1974; 108: 175-177.
11. Bachmann F, Mc Kenna R, Cole ER et al - The haemostatic mechanism after open heart surgery. I. Studies in plasma coagulation factors and fibrinolysis in 512 patients after extracorporeal circulation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1975; 70: 76-85.
12. Kirklin JK - The Post Perfusion Syndrome: Inflammation and Damaging Effects of Cardiopulmonary Bypass, In: Tinker, J.H. *Cardiopulmonary Bypass. Current Concepts and Controversies*, WB Saunders Company, Philadelphia 1989; 131-146.
13. Mc Kenna R, Bachmann F, Whittaker B et al - The haemostatic mechanism after open heart surgery. II. Frequency of abnormal platelet function during and after extracorporeal circulation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1975; 70: 298-308.
14. Miller DR, Kuenzig M.C - Pulmonary Changes Following Normothermic and Profound Hypothermic Perfusion in Dogs. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1968; 56: 717-731.
15. Tilney NL, Hester WJ - Physiologic and Histologic Changes in the Lungs of Patients Dying after Prolonged Cardiopulmonary Bypass: An Inquiry into the Nature of Post-Perfusion Lung. *Ann Surg* 1967; 166: 759-765.
16. Vermes LMS - Complemento. In: Calich, V.L.G; Vaz, C.A.C. *Imunologia Básica*. São Paulo, Livraria Editora Artes Médicas Ltda, 1a ed 1988; pag 105-122.
17. Hyde RM, Patnode RA - Immunology, New York, Harwal Publishing Company, 1987; 1a ed 41-48.
18. Parker DJ, Cantrell JW, Karp RB et al - Changes in serum complement and immunoglobulin following cardiopulmonary bypass. *Surgery* 1972; 6: 824-827.
19. Hammerschmidt DE, Strocek DF, Bowers TK et al - Complement activation and neutropenia occurring during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1981; 81: 370-377.
20. Haslam P L, Branthwaite MAT - Complement Activation during cardiopulmonary bypass. *Anaesthesia* 1980; 35: 22-26.
21. Jones JM, Matthews N, Vaughan RS - Cardiopulmonary bypass and complement. Involvement of classical and alternative pathways. *Anaesthesia* 1982; 37: 629-633.
22. Kirklin JK, Westaby S, Blackstone E H, Kirklin JW et al - Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983; 86: 845-857.
23. Salama A, Hugo F, Heinrich D et al - Deposition of Terminal C5b9 Complement Complexes on Erythrocytes and Leukocytes during Cardiopulmonary Bypass. *N Engl J Med* 1988; 318:408-414.
24. Craddock PR, Fehr J, Brigham KL et al - Complement and Leucocyte-Mediated Pulmonary Disfunction in Hemodialysis. *N Engl J Med* 1977; 296: 769-774.
25. Chenoweth DE, Cooper SW, Hugli TE et al - Complement Activation during Cardiopulmonary Bypass. Evidence for generation of C3a and C5a Anaphylatoxin. *N Eng J Med* 1981; 304: 497-503.
26. Hammerschmidt DE, Craddock PR, Mc Cullough MJ et al - Complement activation and pulmonary leukostasis during nylon fiber filtration leukopheresis. *Blood* 1978; 51: 721-730.
27. Nusbacher J, Rosenfield SI, Mac Pherson JL et al - Nylon fiber leukopheresis associated complement changes and granulocytopenia. *Blood* 1978; 51: 359-365.
28. Brandslund I, Siersted HC, Svehag SE et al - Double-Decker Rocket Immunoelectrophoresis for Direct Quantitation of Complement C3 Split Products with C3d Specificities in Plasma. *J Immunol Methods* 1981; 44: 63-71.
29. Antonsen S, Brandslund I, Clemensen S et al - Neutrophil Lysosomal Enzyme Release And Complement Activation During Cardiopulmonary Bypass. *Scand J Thor Cardiovasc Surg* 1987; 21: 47-52.
30. Stites DP, Rodgers C - Clinical Laboratory Methods for Detection of Antigens and Antibodies. In: Stites, D.P.; Terr, A.I. *Basic and Clinical Immunology 7a ed*. Lange Medical Publication, Connecticut 1991; 217-223.
31. Collett B, Algaq A, Abdullah NB et al - Pathways to complement activation during cardiopulmonary bypass. *British Medical Journal* 1984; 289: 1251-1284.
32. Knudsen F, Pedersen JO, Jhuhl, O et al - Complement and Leukocytes During Cardiopulmonary Bypass: Effects on Plasma C3d and C5a, Leukocyte Count, Release of Granulocyte Elastase and Granulocyte Chemotaxis. *J Cardiothorac Anesth*, 1988; 2: 164-170.
33. Cavarocchi NC, Schaff HV, Orszulak TA et al - Evidence for complement activation by protamine-heparin interaction after cardiopulmonary bypass. *Surgery* 1985; 3: 525-531.
34. Olinger NG, Becker RM, Bonchek LI - Noncardiogenic Pulmonary Edema and Peripheral Vascular Collapse Following Cardiopulmonary Bypass: Rare Protamine Reaction? *Ann Thorac Surg* 1980; 29: 20-25.
35. Best N, Sinosich MJ, Teisner B et al - Complement activation during cardiopulmonary bypass by heparin-protamine interaction. *Br J Anaesth* 1984; 56: 339-343.
36. Rent R, Ertel N, Eisentein R et al - Complement activation by interaction of polyanion and polycation. Heparin-Protamine induced consumption of complement. *J Immunol* 1975; 114: 120-124.
37. Videm V, Mollnes TE, Garred P et al - Biocompatibility of extracorporeal circulation In vitro comparison of heparin-coated and uncoated oxygenator circuits. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 101: 654-660.
38. Videm V, Svennevig JL, Fosse E et al - Reduced complement activation with heparin-coated oxygenator and tubings in coronary bypass operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 103: 806-813.
39. Oeveren WV, Kazatchkine MD, Deschamps-Letscha B et al - Deleterious effects do cardiopulmonary bypass: A prospective study of bubble versus membrane oxygenation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1985; 89: 888-899.
40. Tamiya T, Yamasak M, Maeo Y et al - Complement activation in cardiopulmonary bypass with special reference to anaphylatoxin production in membrane and bubble oxygenators. *Ann Thorac Surg* 1985; 46: 47-57.