

Antônio M S Chibante<sup>1</sup>  
Marcelo C Vaz<sup>2</sup>  
Francisco Suzo Vargas<sup>3</sup>

## Comportamento anti-inflamatório da IL-6 nos derrames pleurais pós-revascularização do miocárdio\*

### *IL-6 anti-inflammatory activity in pleural effusion post-coronary artery bypass graft surgery\**

Recebido para publicação/received for publication: 06.12.09

Aceite para publicação/accepted for publication: 07.03.01

#### Resumo

**Introdução:** O comportamento pleural pós-cirurgia de revascularização do miocárdio (PCRM) não está devidamente esclarecido em relação à resposta inflamatória local e requer maior interesse por ser uma observação constante e ainda pouco estudada.

**Objetivo:** Avaliar o comportamento de algumas citocinas, em especial o possível papel anti-inflamatório da IL-6 (proteína envolvida na síntese da cortisona), no líquido pleural PCRM, uma vez que a sua actividade pró-inflamatória é constantemente referida, assim como o seu papel de citocina de *fase de resposta aguda* ao lado do TNF- $\alpha$  e da IL-1 $\beta$  nos processos inflamatórios agudos.

**Casuística e método:** foram estudadas e analisadas pelo método ELISA as citocinas TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, VEGF e TGF- $\beta$  em 16 transudatos e 43

#### Abstract

**Introduction:** The local inflammatory reaction aspects of pleural behaviour post-coronary artery bypass graft surgery (PCABG) are not completely evident, demanding further study and observation.

**Aim:** To evaluate the behaviour of some cytokines and the possible anti-inflammatory activity of IL-6 (a protein involved in cortisone synthesis) on acute PCABG pleural fluid, since this cytokine is usually considered as an acute phase reaction protein associated to high concentrations of TNF-alpha and IL-1beta in immediate inflammatory reactions.

**Material and methods:** The concentrations of the TNF-alpha, IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, VEGF and TGF-beta cytokines in 16 transudates and 43 exudates in acute PCABS pleural fluid of patients were analysed by the

\* Trabalho realizado no Serviço de Pneumologia da Universidade de São Paulo e no Instituto do Coração. / Study undertaken at the Universidade de São Paulo Pulmonology Unit and Universidade de São Paulo Heart Institute.

<sup>1</sup> Professor Associado de Pneumologia da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro / Associate Professor of Pulmonology, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

<sup>2</sup> Professor Assistente de Pneumologia da Universidade de São Paulo / Assistant Professor of Pulmonology, Universidade de São Paulo

<sup>3</sup> Professor Titular de Pneumologia da Universidade de São Paulo / Full Professor of Pulmonology, Universidade de São Paulo

#### Correspondência/Correspondence to:

Rua Sorocaba 477 / 601 – CEP 22271-110 Botafogo RJ  
Rio de Janeiro – BRASIL Fone/Fax 55.21.2430-8854  
E-mail – chibante@domain.com.br / chibante@gmail.com

exsudatos de líquido pleural em três tempos da fase aguda (2, 24 e 48 horas) PCRM no Instituto do Coração e Serviço de Pneumologia da USP – Brasil.

**Resultados:** Tanto o TNF- $\alpha$  como IL-2 não sofreram qualquer tipo de elevação dos seus níveis enquanto os da IL-1 $\beta$  só se elevaram a partir das 24 horas, o que coincidiu com a queda da curva da citocina anti-inflamatória TGF- $\beta$ , que desde o início foi caindo flagrantemente até aos valores dos transudatos. A IL-8 permaneceu elevada nas três fases e o VEGF foi ascendendo os seus níveis, que permaneceram estáveis nas 24 e 48 horas seguintes. A IL-6 mostrou-se em concentrações elevadas desde o início, apresentando-se como a única citocina com potencial anti-inflamatório durante as três fases de avaliação.

**Conclusões:** Concluímos que a citocina IL-6 parece ter papel anti-inflamatório de destaque e superior ao TGF- $\beta$  nos derrames pleurais PCRM e que o seu comportamento desarticula, pelo menos neste tipo de derrame, a ideia de citocina pró-inflamatória de *resposta de fase aguda*. Ao que parece, este é o primeiro estudo que procura demonstrar um papel favorável da IL-6 no processo inflamatório da pleura na fase aguda PCRM.

Rev Port Pneumol 2007; XIII (3): 319-334

**Palavras-chave:** IL-6, citocinas, derrame pleural.

ELISA method 2, 24 and 48 hours after surgery at the *Instituto do Coração and Serviço de Pneumologia da USP, Brazil.*

**Results:** While no increase was seen in either TNF-alpha or IL-2 in any of the three tests, IL-1beta increased after 24 until 48 hours, coinciding with the TGF-beta curve decline which fell from the beginning to reach the transudates levels. IL-8 remained higher from the beginning and through the two subsequent tests while VEGF levels were elevated from the first test and continued high for the following 24 and 48 hours. IL-6 had high concentrations from the beginning, suggesting an anti-inflammatory activity at the three times of testing.

**Conclusions:** We conclude that IL-6 seems to play an important anti-inflammatory part which is superior to the anti-inflammatory activity of TGF-beta in PCABG pleural effusions. This performance of IL-6 breaks with the traditional idea of it being a pro-inflammatory acute phase reaction cytokine, at least in this type of pleural effusion. This seems to be the first study involving the favourable behaviour of IL-6 in the inflammatory reaction of pleura in the acute phase of PCABG surgery.

Rev Port Pneumol 2007; XIII (3): 319-334

**Key-words:** IL-6, pleural effusion, coronary artery bypass graft surgery.

## Introdução

A cirurgia de revascularização do miocárdio pode resultar em complicações pleuro-pulmonares tanto na fase perioperatória como no pós-operatório tardio. As atelectasias e os derrames pleurais compreendem os problemas mais comuns referidos por uma série de autores<sup>1,2,3,4,5</sup>. A maioria desses derrames têm resolução espontânea; no entanto,

## Introduction

Coronary artery bypass graft surgery can lead to pleuro-pulmonary complications both in the peri- and late post-operative phase. Atelectasis and plural effusion are the more common problems, documented by a series of authors<sup>1,2,3,4,5</sup>. While the greater part of these effusions resolves spontaneously, they can become recidivant and develop with pleural

podem tornar-se recidivantes e evoluir com espessamento pleural e acentuado grau de disfunção que requeira descorticação<sup>6,7</sup>.

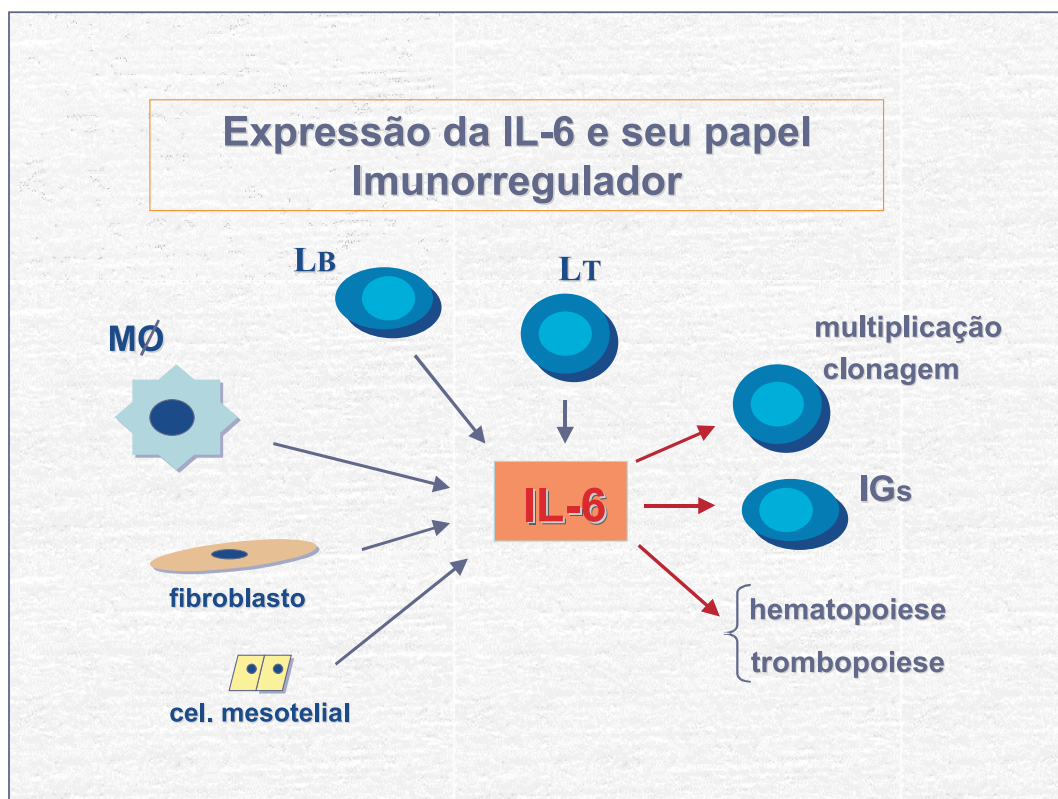
Mecanismos inflamatórios, no entanto, têm sido evocados e constatados no soro de indivíduos com injúria do miocárdio e aos submetidos à cirurgia de revascularização, através da identificação de anticorpos antimiocárdio e do perfil comportamental das citocinas no sangue destes indivíduos<sup>8,9</sup>. A mobilização de elementos inflamatórios após agressão do pericárdio deixa em aberto a avaliação dos mecanismos de resposta da pleura, uma vez que a célula mesotelial apresenta capacidade de resposta inflamatória aos mais diversos estímulos<sup>10</sup>. Estes eventos poderiam explicar, ao menos em parte, o derrame pleural tardio pós-revascularização do miocárdio.

A interleucina 6 (IL-6) é uma citocina considerada como pró-inflamatória e induzida com as citocinas factor- $\alpha$  de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e interleucina-1 (IL-1) em muitas condições de alarme num sinergismo de acção inflamatória rotulado como *resposta de fase aguda*<sup>11,12</sup>. Age estimulando as células T, diferencia células B e favorece tanto a hematopoiese como a trombopoiese. É libertada por um número expressivo de células imunologicamente activas (linfócitos T e B activados, fibroblastos, monócitos/macrófagos e células mesoteliais e endoteliais). Devido ao seu papel nos processos inflamatórios, esta interleucina é considerada como marcadora de activação sistémica das citocinas pró-inflamatórias<sup>13</sup>. Às vezes pode apresentar-se como marcador de mau prognóstico quando presente em algumas situações neoplásicas<sup>14,15</sup>. Do mesmo modo, quando a elevação dos seus níveis séricos está associada à activação de outras citocinas, a possibilidade de processos infecciosos e inflamatórios críticos concomitantes deve ser levada em consideração<sup>16,17</sup>.

thickening and widespread dysfunction, needing decortication<sup>6,7</sup>.

Inflammatory mechanisms have been noted and documented in the serum of those with coronary injury or those undergoing coronary artery bypass graft surgery, through the identification of anti-myocardial antibodies and through mapping the behaviour of the cytokines in these patients' blood<sup>8,9</sup>. The mobilisation of anti-inflammatory entities after trauma to the pericardium leaves the way clear for the evaluation of the mechanisms of pleural reaction, in that the mesothelial cell is capable of an inflammatory reaction to a wide series of stimuli<sup>10</sup>. These events may go part-way to explaining late pleural effusion following coronary bypass surgery.

Interleukin 6 (IL-6) is a cytokine considered pro-inflammatory and induced with the factor- $\alpha$  cytokines of tumour necrosis (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-1 (IL-1) in many adverse event situations in a synergy of inflammatory action dubbed the 'acute phase reaction'<sup>11,12</sup>. It stimulates the T cells, differentiates B cells and promotes both haematopoiesis and thrombopoiesis. It is released by immunologically active cells (activated T and B lymphocytes, fibroblasts, monocytes/macrophages and mesothelial and endothelial cells). Its role in the inflammatory processes makes this interleukine a marker of systemic activation of the pro-inflammatory cytokines<sup>13</sup>. It can sometimes present as a marker of a poor prognosis when it presents in some incidences of neoplasia<sup>14,15</sup>. Similarly, when the raised serum levels are associated to activation of other cytokines, the possibility of concomitant infectious processes and critical inflammatories should be considered<sup>16,17</sup>.



Mφ = macrófago; LB = linfócito B; LT = linfócito T; Igs = imunoglobulinas

Fig. 1 – Expressão e imunorregulação da IL-6

Devido às suas particularidades de mobilização, um grupo de proteínas biologicamente activas pode ser recrutado por esta citocina, conforme relacionado no Quadro I<sup>18</sup>.

A estimulação de IL-2 pela IL-6 favorece a reprodução celular T e a diferenciação clo-

Due to its mobilisation peculiarities, a group of biologically active proteins can be recruited by this cytokine, as Table I details<sup>18</sup>.

The stimulation of IL-2 by IL-6 promotes cellular T reproduction and clonal differentiation in the same way in which its partici-

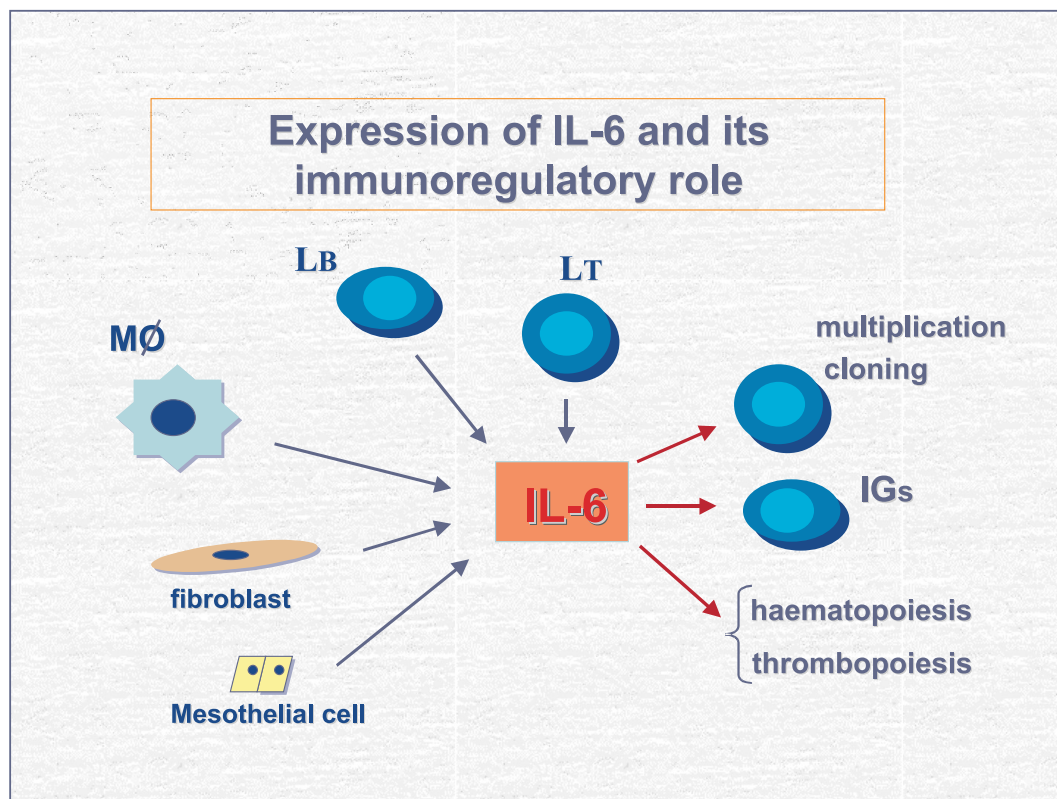
Quadro I – Proteínas mobilizadas pela IL-6

- albumina
- fibrinogénio
- proteína C reativa
- fibronectina
- antitripsina- a1
- angiotensina
- ceruloplasmina

Table I – Proteins mobilised by IL-6

- albumin
- fibrinogen
- reactive C protein
- fibronectin
- antichymotrypsin- a1
- angiotensin
- ceruloplasmin





Mφ = macrophage, LB = B lymphocyte, LT = T lymphocyte, Igs = immunoglobulins

Fig. 1 – Expression and immunoregulation of IL-6

nal, do mesmo modo que a sua participação na activação de células B concorre para a elevação dos níveis de imunoglobulinas<sup>19</sup>.

Isoladamente não tem papel de síntese de outras citocinas, porém reforça a acção do TNF- $\alpha$  e da IL-1, ao mesmo tempo que favorece a expressão de IL-2R, a síntese de IL-1R, assim como a inibição da produção de GM-CSF, MIP-2 e INF- $\gamma$ <sup>16,20</sup>. A Fig. 1 esquematiza os vectores de expressão e o papel imunorregulador da IL-6.

Apesar de ser considerada, quase que exclusivamente, como uma citocina pró-inflamatória, a IL-6 também apresenta actividade anti-inflamatória, uma vez que pode favorecer a síntese de corticosteroide<sup>21</sup>. A sua participação como

pation in the activation of B cells contributes to the raised immunoglobulin levels<sup>19</sup>).

In isolation it plays no part in the synthesis of other cytokines. It reinforces the action of TNF- $\alpha$  and IL-1, promotes the expression of IL-2R and the synthesis of IL-1R and inhibits production of GM-CSF, MIP-2 and INF- $\gamma$ <sup>16,20</sup>. Fig. 1 shows the vectors of expression and the immunoregulatory role of IL-6.

Despite being considered almost exclusively a pro-inflammatory cytokine, IL-6 also demonstrates anti-inflammatory behaviour in that it can promote the synthesis of corticosteroid<sup>21</sup>. Its behaviour as an anti-in-

proteína anti-inflamatória, sem a compensação da IL-10 ou factor  $\beta$  de transformação do crescimento (TGF- $\beta$ ), foi sugerido em estudos de Xing Z e colaboradores<sup>22</sup>, do mesmo modo que estudos *in vitro* sugerem ser ela capaz de favorecer a apoptose de neutrófilos. Por outro lado, cobaias IL-6 / quando confrontadas com cobaias IL-6+/+ apresentaram magnitude de TNF- $\alpha$  100% mais elevada quando estimuladas com endotoxinas, supondo um papel controlador da IL-6 sobre TNF- $\alpha$ <sup>22</sup>.

Estes estudos parecem colocar em certo grau de evidência o papel anti-inflamatório da IL-6 ao contrário do que se absorve repetidamente na literatura que rotula esta citocina basicamente como pró-inflamatória.

### Objectivo

Avaliar o possível papel anti-inflamatório da IL-6 na resposta inflamatória da pleura na fase aguda pós-revascularização do miocárdio através da avaliação do comportamento das citocinas no líquido pleural.

### Casuística e método

O estudo contou com dois grupos, sendo um grupo-controlo (16 doentes com derrames pleurais do tipo transudatos provenientes do ambulatório de doenças pleurais do Hospital das Clínicas da FMUSP) e um grupo de estudo (43 doentes submetidos à revascularização do miocárdio no Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da FMUSP).

Foram analisadas as citocinas factor  $\alpha$  de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleucina 2 (IL-2), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), factor de crescimento do endotélio vascular (VEGF) e fator  $\beta$  de transformação do crescimento (TGF- $\beta$ ).

flammatory protein, without the compensation of IL-10 or Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), was suggested in studies by Xing Z *et al*<sup>22</sup> and *in vitro* studies similarly suggest it could promote neutrophils apoptosis. On the other hand, IL-6 / guinea pigs as compared to IL-6+/+ guinea pigs show a 100% higher TNF-a when stimulated with endotoxins, positing that IL-6 is in a controlling relationship over TNF- $\alpha$ <sup>22</sup>.

These studies seem to serve as evidence of the anti-inflammatory role of IL-6, unlike a great deal of literature which labels this cytokine mainly pro-inflammatory.

### Aim

To evaluate the possible anti-inflammatory role of IL-6 in the inflammatory reaction of pleural effusions PCABG through studying the behaviour of cytokines in the pleural fluid.

### Material and methods

This study contained two groups; a control group (16 patients with transudate-type pleural effusions, taken from outpatients with pleural diseases at the *Hospital das Clínicas da FMUSP*) and a study group (43 patients undergoing coronary artery bypass graft surgery at the *Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da FMUSP*).

The following cytokines were analysed: factor- $\alpha$  cytokines of tumour necrosis (TNF- $\alpha$ ), Interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), Interleukin 2 (IL-2), Interleukin 6 (IL-6), Interleukin 8 (IL-8), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Factor  $\beta$  of Transformation Growth Factor (TGF- $\beta$ ).

Para avaliar o comportamento das citocinas no líquido pleural na fase aguda do pós-operatório da revascularização do miocárdio assumimos como critério de normalidade das citocinas as dosagens realizadas nos transudatos (controlo) e comparamos com as dosagens seriadas dos doentes submetidos a revascularização do miocárdio.

O grupo submetido à cirurgia cardíaca foi avaliado em quatro momentos diferentes, sendo o primeiro no pré-operatório (avaliação de critérios de inclusão e exclusão e consentimento pós-informado), a segunda foi feita após duas horas da finalização da cirurgia (recolha de líquido pleural), a terceira após 24 horas (recolha de líquido pleural) e a quarta após 48 horas da cirurgia (recolha de líquido pleural).

### Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando os *softwares* estatísticos SAS (SAS Institute Inc – North Caroline – USA) e SPSS (SPSS Inc – Illinois USA). Os dados contínuos foram descritos através dos valores mínimo e máximo, mediana, média, desvio e erro-padrão.

As medidas das citocinas ao longo do tempo no pós-operatório foram comparadas através da análise de variância para medidas repetidas. A suposição de normalidade dos dados nas análises citadas foi verificada construindo-se os gráficos de ramo-e-folhas e de distribuição normal dos resíduos. Nas situações em que tal suposição foi violada, utilizou-se a transformação logarítmica para a variável resposta. O nível de significância estabelecido para as análises foi de 5%.

### Resultados

O comportamento das citocinas no líquido pleural na fase aguda do pós-operatório da

We took as baseline cytokine the levels found in the control group transudates to compare with the serum levels of the CABG patients in order to evaluate the behaviour of the cytokines in pleural fluid in the acute post-coronary artery bypass graft surgery phase. The CABG group was evaluated at four different points; the first pre-op (evaluation of inclusion/exclusion criteria and obtaining of informed consent), the second two hours after surgery (collection of pleural fluid), the third 24 hours after surgery (collection of pleural fluid) and the fourth 48 hours after surgery (collection of pleural fluid).

### Statistical analysis

Statistical analysis was carried out using the statistical software SAS (SAS Institute Inc – North Carolina – USA) and SPSS (SPSS Inc – Illinois USA). Continuous data was described through minimum, maximum, median and mean values and standard and error deviation.

Cytokine measurements over post-operative time were compared through analysing the variance for repeated measurements. The supposed normalcy of the data in the above-mentioned analysis was verified by constructing stem-and-leaf plots and normal distribution of residues. When the supposition was violated, the logarithmic transformation for the variable response was used. The level of significance set for the analysis was 5%.

### Results

The behaviour of cytokines in the pleural fluid in the acute phase of post-coronary

revascularização do miocárdio, em relação às dosagens consideradas como normais (transudatos), demonstrou haver uma mobilização das citocinas com elevação da IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, VEGF e TGF- $\beta$ . Por outro lado, a IL-2 e a TNF- $\alpha$  mantiveram-se sempre baixos, tanto nos derrames transudativos quanto nos pós-cirúrgicos.

- **IL-1 $\beta$**  – Ao comparar as médias do ln(IL-1beta) no grupo cirurgia com a média do grupo transudato observa-se que após duas horas do término da cirurgia os níveis de IL-1 $\beta$  são similares aos observados nos líquidos transudativos ( $p=0,2325$ ), elevando-se nas primeiras 24 horas ( $p=0,0014$ ) e permanecendo elevada após 48 horas ( $p=0,0008$ ) Quadro II.
- **IL-2** – Apresentou resultados abaixo dos valores mínimos de detecção do método, tanto nos derrames transudativos, como

artery bypass graft surgery in relation to levels considered normal (transudates) showed a mobilisation of cytokines with raised IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, VEGF and TGF- $\beta$ . Conversely, IL-2 and TNF- $\alpha$  remained low in both the transudate and post-surgical effusions.

- **IL-1 $\beta$**  – In comparing the mean ln(IL-1beta) of the Surgery group with that of the Transudates group, it could be seen that two hours post-surgery the levels of IL-1 $\beta$  were similar to those in the transudative fluids ( $p=0.2325$ ). They rose in the first 24 hours ( $p=0.0014$ ) and maintained high for 48 hours ( $p=0.0008$ ) Table II

- **IL-2** – IL-2 presented results below the minimum values of detection of the method both in the transudates and post-coronary artery bypass graft effusions.

**Quadro II** – Dados descritivos das medidas da IL-1 $\beta$  em relação à sua evolução temporal no pós-operatório e em relação às medidas dos transudatos (Resultados apresentados como média  $\pm$  desvio-padrão)

Grupo	Avaliação	n	IL-1 $\beta$	ln(IL-1 $\beta$ )
Cirurgia	2 h	43	15,19 $\pm$ 33,14	1,798 $\pm$ 0,231
	24 h	43	45,03 $\pm$ 88,72	2,575 $\pm$ 0,218
	48 h	43	34,49 $\pm$ 46,42	2,610 $\pm$ 0,263
Transudatos	–	16	13,71 $\pm$ 40,46	1,421 $\pm$ 0,263

**Table II** – Data describing the IL-1 $\beta$  means in relation to their post-op development over time and in relation to the transudates means (Results given as  $\pm$  standard deviation)

Group	Evaluation	n	IL-1 $\beta$	ln(IL-1 $\beta$ )
Surgery	2 h	43	15.19 $\pm$ 33.14	1.798 $\pm$ 0.231
	24 h	43	45.03 $\pm$ 88.72	2.575 $\pm$ 0.218
	48 h	43	34.49 $\pm$ 46.42	2.610 $\pm$ 0.263
Transudates	–	16	13.71 $\pm$ 40.46	1.421 $\pm$ 0.263



# COMPORTAMENTO ANTI-INFLAMATÓRIO DA IL-6 NOS DERRAMES PLEURAIS PÓS-REVASCULARIZAÇÃO DO MIOCÁRDIO

António M S Chibante, Marcelo C Vaz, Francisco Suzo Vargas

nos derrames após a revascularização do miocárdio. Desta forma, não foi realizada nenhuma análise estatística nestes parâmetros por não participar nos mecanismos de inflamação pleural.

- **TNF- $\alpha$**  – Em todos os momentos avaliados, os valores do TNF- $\alpha$  do grupo submetido à cirurgia mantiveram-se semelhantes aos observados nos transudatos ( $p=0,72$ ), não sendo considerado como participante nos mecanismos de inflamação pleural.
- **IL-6** – A IL-6 apresentou-se elevada quando confrontada com os valores dos transudatos desde o primeiro intervalo (2 horas –  $p<0,001$ ), com discreta queda ao longo do tempo ( $p=0,03$  e  $p=0,02$ ), mas sem retornar aos valores assumidos como de referência de normalidade (transudatos) ( $p<0,001$  – 48 horas) Quadro III.

Accordingly, no statistical analysis of these parameters was undertaken as they played no part in pleural inflammation mechanisms.

- **TNF- $\alpha$**  – As the TNF- values of the Surgery group remained similar to those observed in the Transudates group at each evaluation ( $p=0.72$ ), TNF- $\alpha$  wasn't considered as a player in pleural inflammation mechanisms.
- **IL-6** – IL-6 was high in comparison to the transudates levels from the first interval (2 hours –  $p<0.001$ ), with a slight fall over time ( $p=0.03$  and  $p=0.02$ ), but without returning to the values taken as a normal reference (transudates) ( $p<0.001$  – 48 hours) Table III.
- **IL-8** – Table IV shows IL-8 was high in comparison to the transudates levels from

**Quadro III** – Dados descritivos das medidas da IL-6 em relação à sua evolução temporal no pós-operatório e com as medidas dos transudatos. (Resultados apresentados como média  $\pm$  desvio padrão)

Grupo	Avaliação	n	IL-6	ln(IL-6)
Cirurgia	2 h	43	27883 $\pm$ 19737	9,978 $\pm$ 0,127
	24 h	43	25043 $\pm$ 16627	9,859 $\pm$ 0,125
	48 h	43	19576 $\pm$ 22296	9,560 $\pm$ 0,113
Transudatos	–	16	6285 $\pm$ 4280	8,526 $\pm$ 0,182

**Table III** – Data describing the L-6 means in relation to their post-op development over time and in relation to the transudates means. (Results given as  $\pm$  standard deviation)

Group	Evaluation	n	IL-6	ln(IL-6)
Surgery	2 h	43	27883 $\pm$ 19737	9.978 $\pm$ 0.127
	24 h	43	25043 $\pm$ 16627	9.859 $\pm$ 0.125
	48 h	43	19576 $\pm$ 22296	9.560 $\pm$ 0.113
Transudates	—	16	6285 $\pm$ 4280	8.526 $\pm$ 0.182

- **IL-8** – Apresentou-se elevada desde o primeiro intervalo (2 horas –  $p < 0,001$ ), em relação aos valores de transudatos, e manteve-se estável nos três intervalos pós-operatórios analisados, conforme o Quadro IV.
  - **VEGF** – Apresentou-se elevado, quando comparado com os valores dos transudatos, desde o primeiro intervalo (2 horas –  $p < 0,001$ ), mantendo-se estável por 48 horas. Contudo, após 48 horas, parece iniciar o decaimento dos seus níveis ( $p = 0,0724$ ) Quadro V.
  - **TGF- $\beta$**  – Apresentou-se elevado quando confrontado com os valores dos transudatos, desde o primeiro intervalo (2 horas –  $p < 0,001$ ), com acentuada e progressiva queda ao longo do tempo, retornando aos valores assumidos como normais (transudatos), ao final de 48 horas ( $p = 0,3764$ ) Quadro VI.
- the first interval (2 hours –  $p < 0.001$ ), and remained stable over the three post-op intervals analysed.
- **VEGF** – Table V shows VEGF was high in comparison to the transudates levels from the first interval (2 hours –  $p < 0.001$ ) and maintained stable for 48 hours. After 48 hours, however, its levels seemed to drop ( $p = 0.0724$ ) Table V.
  - **TGF- $\beta$**  – Table VI shows TGF- $\beta$  was high in comparison to the transudates levels from the first interval (2 hours –  $p < 0.001$ ) with a marked and progressive drop over time, returning to the levels taken as normal (transudates) after 48 hours ( $p = 0.3764$ ) Table VI.

**Quadro IV** – Dados descritivos das medidas da IL-8 em relação à sua evolução temporal no pós-operatório e com as medidas dos transudatos (Resultados apresentados como média  $\pm$  desvio-padrão)

Grupo	Avaliação	n	IL-8
Cirurgia	2 h	43	2612 $\pm$ 1415
	24 h	43	2855 $\pm$ 1492
	48 h	43	2757 $\pm$ 1496
Transudatos	–	16	77 $\pm$ 136

**Table IV** – Data describing the IL-8 means in relation to their post-op development over time and in relation to the transudates means (Results given as mean  $\pm$  standard deviation)

Group	Evaluation	n	IL-8
Surgery	2 h	43	2612 $\pm$ 1415
	24 h	43	2855 $\pm$ 1492
	48 h	43	2757 $\pm$ 1496
Transudates	–	16	77 $\pm$ 136

# COMPORTAMENTO ANTI-INFLAMATÓRIO DA IL-6 NOS DERRAMES PLEURAIS PÓS-REVASCULARIZAÇÃO DO MIOCÁRDIO

António M S Chibante, Marcelo C Vaz, Francisco Suzo Vargas

**Quadro V** – Dados descritivos das medidas da VEGF em relação à sua evolução temporal no pós-operatório e com as medidas dos transudatos (Resultados apresentados como média  $\pm$  desvio-padrão)

Grupo	Avaliação	n	VEGF	ln (VEGF)
Cirurgia	2 h	43	877 $\pm$ 935	6,336 $\pm$ 0,147
	24 h	43	2391 $\pm$ 1666	7,541 $\pm$ 0,107
	48 h	43	1787 $\pm$ 1042	7,365 $\pm$ 0,072
Transudatos	—	16	268 $\pm$ 224	5,132 $\pm$ 0,294

**Table V** – Data describing the VEGF means in relation to their post-op development over time and in relation to the transudates means (Results given as mean  $\pm$  standard deviation)

Group	Evaluation	n	VEGF	ln (VEGF)
Surgery	2 h	43	877 $\pm$ 935	6.336 $\pm$ 0.147
	24 h	43	2391 $\pm$ 1666	7.541 $\pm$ 0.107
	48 h	43	1787 $\pm$ 1042	7.365 $\pm$ 0.072
Transudates	–	16	268 $\pm$ 224	5.132 $\pm$ 0.294

**Quadro VI** – Dados descritivos das medidas da TGF- $\beta$  em relação à sua evolução temporal no pós-operatório e com as medidas dos transudatos (Resultados apresentados como média  $\pm$  desvio-padrão)

Grupo	Avaliação	n	TGF	ln(TGF)
Cirurgia	2 h	43	486 $\pm$ 312	5,941 $\pm$ 0,117
	24 h	43	273 $\pm$ 255	5,205 $\pm$ 0,137
	48 h	43	136 $\pm$ 148	4,645 $\pm$ 0,095
Transudatos	–	16	138 $\pm$ 69	4,805 $\pm$ 0,152

**Table VI** – Data describing the TGF- $\beta$  means in relation to their post-op development over time and in relation to the transudates levels (Results given as mean  $\pm$  standard deviation)

Group	Evaluation	n	TGF	ln(TGF)
Surgery	2 h	43	486 $\pm$ 312	5.941 $\pm$ 0.117
	24 h	43	273 $\pm$ 255	5.205 $\pm$ 0.137
	48 h	43	136 $\pm$ 148	4.645 $\pm$ 0.095
Transudates	–	16	138 $\pm$ 69	4.805 $\pm$ 0.152

## Discussão

O derrame pleural na fase aguda pós-cirurgia de revascularização do miocárdio costuma apresentar-se como um líquido sero-hemático, com domínio absoluto de neutrófilos e concentrações variáveis de citocinas. Poucos estudos abordam o comportamento inflamatório da pleura no pós-operatório desta cirurgia, o que impede que maiores conclusões possam ser obtidas neste tipo de derrame, rotulado de precoce e com particularidades bem definidas que o faz diferenciar dos derrames tardios, não só pelo aspecto como pelo comportamento celular<sup>3</sup>. Na avaliação das citocinas analisadas observamos que tanto o TNF- $\alpha$  como a IL-2 não sofrem qualquer tipo de expressão, mantendo níveis semelhantes aos dos transudatos. Talvez a mínima presença de linfócitos e macrófagos nos líquidos estudados possa justificar a baixa concentração destas duas citocinas<sup>19</sup>. Contrariamente ao habitual, não observámos o tradicional comportamento de TNF- $\alpha$ , IL- $\beta$  e IL-6 na chamada *resposta de fase aguda*, tão amplamente difundida nas agressões inflamatórias em geral. Pelo contrário, apenas a IL-6 se manteve presente desde os primeiros momentos, enquanto a IL-1 $\beta$  só numa fase mais tardia iniciou sua ascensão, o que, aliado à continuada ausência de TNF- $\alpha$ , desarticula o conceito de *resposta de fase aguda*, pelo menos nestes tipos de derrames. O confronto das curvas das citocinas avaliadas nos três momentos analisados (2, 24 e 48 horas) talvez nos induza a pensar que só após a queda da citocina anti-inflamatória TGF- $\beta$  é que a IL-1 $\beta$  iniciou sua presença como proteína pró-inflamatória, o que, por um outro lado, configura um papel anti-inflamatório bastante reduzido do TGF- $\beta$  nestes tipos de líquidos em função da flagrante queda das suas concentrações nas 24 e 48 horas subsequentes (Fig. 2).

## Discussion

Pleural effusion in acute post-coronary artery bypass graft phase presents as a serohematic liquid with a total predominance of neutrophils and varying concentrations of cytokines. Very few studies have delved into the inflammatory behaviour of the pleura after this surgery, which means major conclusions cannot be drawn on this type of effusion. It is labelled as early and has well-etched characteristics, which differentiate it from late effusions in both aspect and cellular<sup>3</sup>.

In the evaluation of the cytokines analysed we observed that neither the TNF- $\alpha$  nor the IL-2 suffer any kind of expression, maintaining levels similar to the transudates. Perhaps the minimum presence of lymphocytes and macrophages in the liquids studied justifies the low concentration of these two cytokines<sup>19</sup>. Unlike what is normally observed, we did not see the traditional behaviour of TNF- $\alpha$ , IL- $\beta$  and IL-6 in what is known as the acute reaction phase as amply diffused in the inflammatory aggressions in general. On the contrary, only the IL-6 was present from the first evaluation while the IL-1b only rose at a later stage, which in parallel with the continued absence of TNF- $\alpha$ , breaks with the concept of the acute phase reaction, at least in these types of effusions. In comparison with the cytokine curves evaluated at the three intervals analysed (2, 24 and 48 hours) could maybe lead us to think that only after the drop in the anti-inflammatory cytokine TGF- $\beta$  does the IL-1 $\beta$  begin to be a pro-inflammatory protein which – on the other hand – confers a very reduced anti-inflammatory role upon TGF- $\beta$  in these types of fluids in view of the sharp drop in its concentrations in the following 24 and 48 hours (Fig. 2).



# COMPORTAMENTO ANTI-INFLAMATÓRIO DA IL-6 NOS DERRAMES PLEURAIS PÓS-REVASCULARIZAÇÃO DO MIOCÁRDIO

António M S Chibante, Marcelo C Vaz, Francisco Suzo Vargas

Ainda em relação a esta citocina, parece bem definido o seu mecanismo de gatilho na expressão de VEGF para o desenvolvimento e manutenção do derrame pleural<sup>23,24</sup>. A IL-8 manteve-se em concentrações elevadas desde a primeira avaliação, realçando o papel da célula mesotelial pleural como fonte da sua expressão, uma vez que a ausência de polissacarídeos e de TNF- $\alpha$ , aliadas ao comportamento da IL-1 $\beta$ , anulam a possibilidade destes elementos participarem no seu comportamento<sup>25</sup>.

A presença de IL-6, mediante as baixas concentrações de macrófagos e linfócitos T e B e elevada presença de neutrófilos nos líquidos estudados, tanto poderia ser um reflexo sistémi-

TGF- $\alpha$  is a cytokine that seems to work as a trigger, leading the pleural mesothelial cell to express VEGF as a cause and maintenance of pleural effusion<sup>23,24</sup>. IL-8 remained in high concentrations from the first evaluation on, underlining the role of the pleural mesothelial cell as source of its expression in that the absence of polysaccharids and TNF- $\alpha$ , in tandem with the behaviour of the IL-1 $\beta$ , negate the possibility that these elements play a part in its behaviour<sup>25</sup>.

The presence of IL-6 in the low concentrations of T and B macrophages and lymphocytes and high presence of neutrophils in the fluids studied could equally be a sys-

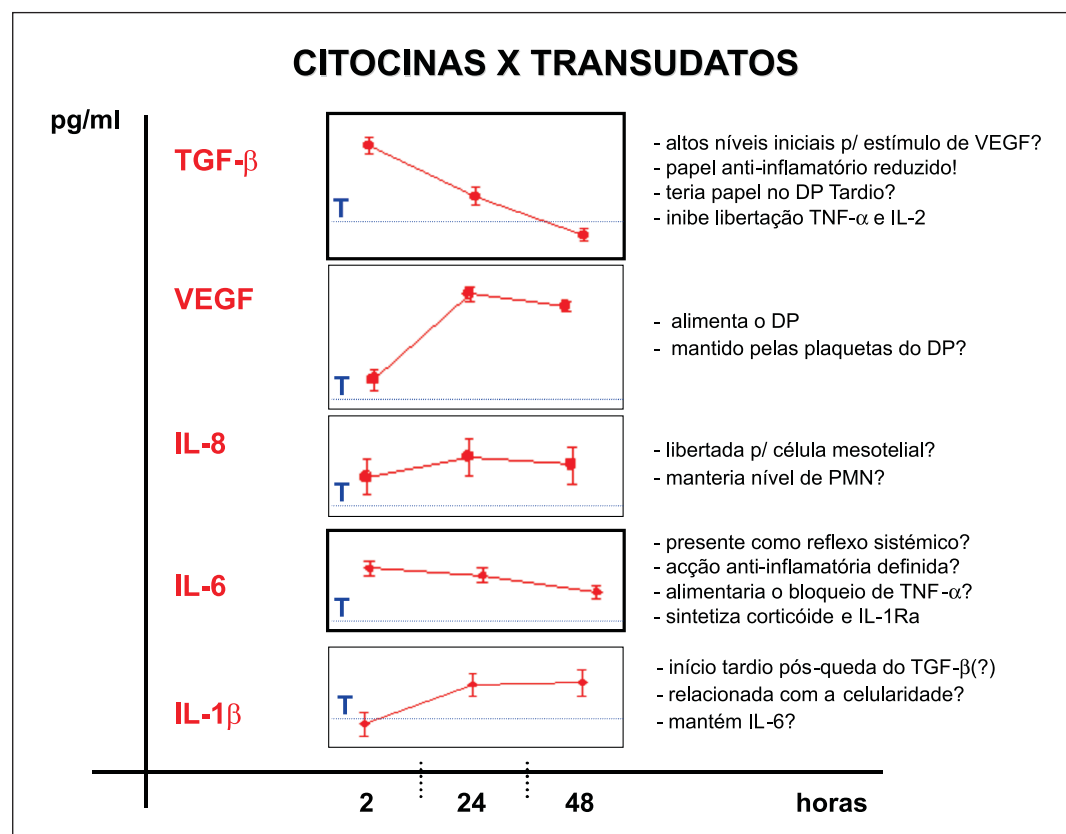


Fig. 2 – Concentrações das citocinas nas três fases pós-cirurgia e seu confronto com as concentrações dos transudatos

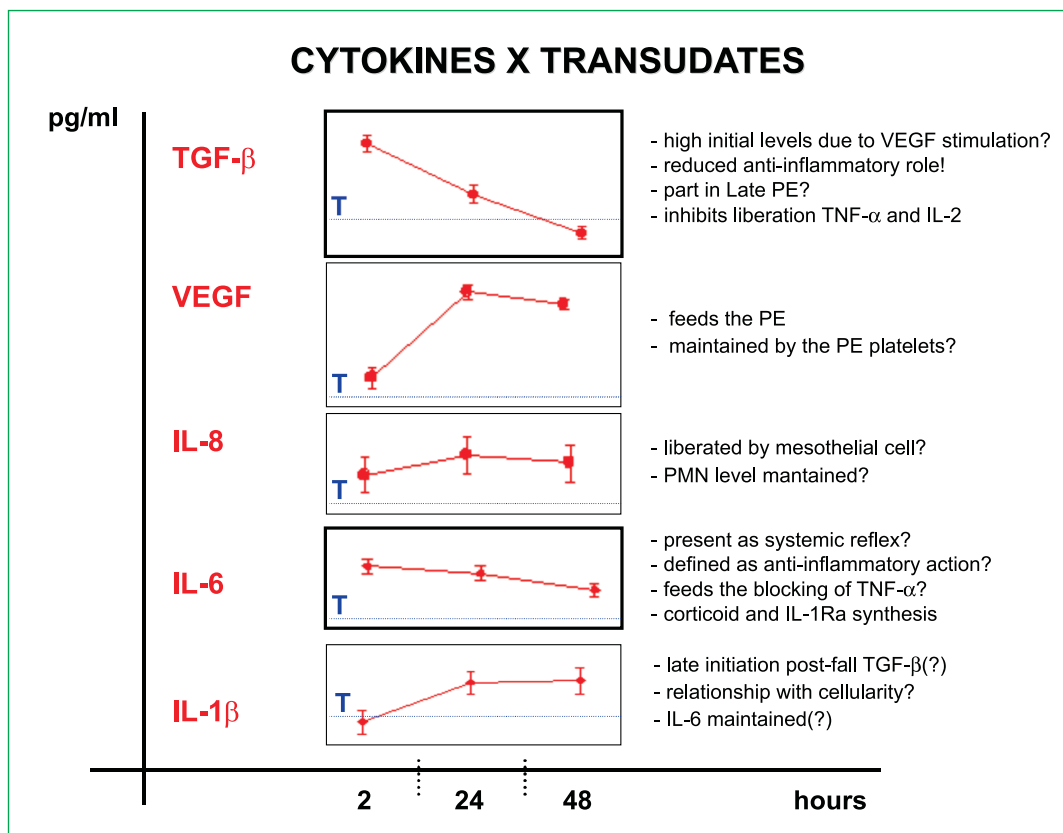


Fig. 2 – Concentrations of the cytokines in the three post-surgical phases and compared with the concentrations of transudates

co como uma consequência da célula mesotelial pleural agredida. As suas concentrações permanecem elevadas desde o primeiro momento e mantêm-se pelas subseqüentes 24 e 48 horas, de modo independente quando confrontadas com os comportamentos do TNF-α e IL-1β. Talvez esta independência comportamental esteja ligada a um papel anti-inflamatório, uma vez que ela tem o poder de favorecer a síntese de corticosteróides e de IL-1Ra<sup>21</sup>. Estudos abordando o comportamento anti-inflamatório da IL-6, sem o reforço da IL-10 ou outros membros da família da IL-6, mostram ser ela capaz de neutralizar a expressão de TNF-α e de outras citocinas pró-inflamatórias<sup>22</sup>. Por

tematic reflection or a consequence of the affected pleural mesothelial cell. It maintains high concentrations from the first point of evaluation over the next 24 and 48 hours, independent of the behaviour of TNF-α and IL-1β. Maybe this independent behaviour is connected to the anti-inflammatory role in that it is capable of promoting synthesis of corticosteroids and IL-1Ra<sup>21</sup>. Studies into the anti-inflammatory behaviour of IL-6 without help from IL-10 or other members of the IL-6 family show it to be capable of neutralising the expression of TNF-α and the other pro-inflammatory cytokines<sup>22</sup>. On the other hand, Weissflog *et*

outro lado, Weissflog e colaboradores<sup>26</sup> demonstraram que em cirurgias torácicas não ligadas a neoplasias a expressão de TNF- $\alpha$  aumenta no líquido pleural pós-operatório, o que reforçaria, no presente estudo, a neutralização pró-inflamatória desta citocina pela IL-6. Assim sendo, observámos que a participação de sua actividade anti-inflamatória torna-se mais evidente devido à acentuada queda das concentrações do TGF- $\beta$ , que deixa de sustentar a sua participação anti-inflamatória nos derrames pleurais avaliados. Acreditamos que este seja um estudo pioneiro na abordagem da IL-6 como citocina antinflamatória em derrames pleurais na fase aguda pós-revascularização do miocárdio.

## Conclusões

Pelo exposto, concluímos que na fase aguda dos derrames pleurais pós-revascularização do miocárdio a proteína anti-inflamatória TGF- $\beta$  participa de maneira discreta na atenuação do processo reacional inflamatório pleural, parecendo interferir, apenas, na expressão da IL-1 $\beta$ , enquanto a IL-6 parece adoptar comportamento anti-inflamatório local mais duradouro e de maior responsabilidade, aparentemente impedindo a expressão de TNF- $\alpha$ , fato que parece desarticular, pelo menos neste tipo de derrame, o papel da IL-6 como citocina de *resposta de fase aguda*.

*al*<sup>26</sup> show that in thoracic surgeries which are not connected to neoplasies, the expression of TNF- $\alpha$  increases in the post-op pleural fluid which backs up the pro-inflammatory neutralisation of this cytokine by IL-6 seen in our study. Accordingly, we observed that its anti-inflammatory action becomes more evident due to the sharp fall in the TGF- $\beta$  concentrations, which does not corroborate an anti-inflammatory role in the pleural effusions evaluated. We believe that this is the first study into IL-6 as an anti-inflammatory cytokine in pleural effusions in the acute post-coronary artery bypass graft phase.

## Conclusions

The above leads us to conclude that in the acute post-coronary artery bypass graft phase, the anti-inflammatory protein TGF- $\beta$  acts discretely in the attenuation of the inflammatory reaction process seeming to only interfere in the expression of IL-1 $\beta$  when IL-6 seems to take on anti-inflammatory behaviour which is local but lasting and more responsible. This seems to impede the expression of TNF- $\alpha$ ; a fact which seems to break with the role, at least in this type of effusion, ascribed to IL-6 as an acute reaction phase cytokine.

## Bibliografia / Bibliography

1. Ishikawa S, Takahashi T, Ohtaki A, Sato Y, Suzuki M, Hasegawa Y, Mohara J, Oshima K, Morishita Y. Peripheral pulmonary atelectasis and oxygenation impairment following coronary artery bypass grafting. J Cardiovasc Surg (Torino) 2002;43:419.
2. Vargas FS, Vezhimi KK, Jatene FF, Terra-Filho M, Hueb W, Cukier A, Light RW. Acute pleuropulmonary

complications detected by computed tomography following myocardial revascularization. Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo 2002;57:135-42.

3. Light RW. Pleural effusions after coronary artery bypass graft surgery. Curr Opin Pulm Med 2002;8:308-11.

4. Ishikawa S, Ohtaki A, Takahashi T, Sakate K, Koyano T, Kano M, Ohkita S, Kawashima O, Hamada Y, Moo-

4. rishita Y. PEEP therapy for patients with pleurotomy during coronary artery bypass. *J Card Surg* 2000;15:175-8.
5. Light RW, Rogers JT, Cheng D *et al.* Large pleural effusions after coronary artery bypassing grafting. *Cardiovascular Surgery Associates* 1999;130:891-6.
6. Lee YC, Vaz Mac, Ely KA *et al.* Symptomatic persistent post-coronary artery bypass graft pleural effusion requiring treatment-clinical and histologic features. *Chest* 2001;119:795-800.
7. Arenó JP, McCartney JP, Eggerstedt J, Grafton W, George R. Persistent pleural effusions following coronary bypass surgery. *Chest* 1998;114:311-4.
8. Wan S, Marchant A, Desemet JM. Human cytokine responses to cardiac transplantation and coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; 111:469-77.
9. Gaudino M, Zamparelli R, Andreotti F, Burzotta F, Tacoviello L, Glioca F, Benedett M, Maseri A, Schiavello R, Possati G. Normothermia does not improve postoperative hemostasis nor does it reduce inflammatory activation in patients undergoing primary isolated coronary artery bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;123:1092-100.
10. Dinarello CA. Proinflammatory Cytokines. *Chest* 2000;118:503-8.
11. Kroegel C, Anthony VB. Immunobiology of pleural inflammation: potential implications for pathogenesis, diagnosis and therapy. *Eur Respir J* 1997;10:2411-18.
12. Xirouchaki MD, Tzanakis N, Bouros D, Kyriakou D, Karkavirtsas N, Alexandrakis M, Siafakas NM. Diagnostic value of interleukin-1a, interleukin-6 and tumor necrosis factor in pleural effusions. *Chest* 2002;121:815-20.
13. Opal SM, De Pablo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest* 2000;117:1162-72.
14. Alexandrakis MG, Kuriakou DS, Bouros D, Xylouri I, Antonakis N, Siafakas NM. Interleukin-6 and its relationships to acute phase proteins in serous effusion differentiation. *Oncol Respir*. 2001;8:415-20.
15. Zhang GJ, Adachi I. Serum interleukin-6 levels correlate to tumor progression and prognosis in metastatic breast carcinoma. *Anticancer Res* 1999;19:2BB 1427-32.
16. Barton BE. IL-6: insights into novel biological activities. *Clin Immunol* 1997; 85:16-20.
17. Monton C, Torres A. Lung inflammatory response in pneumonia. *Arch Chest Dis* 1998;53:56-63.
18. Yokoyama A, Kohno N, Fujino A, Abe M, Ishida O, Hiwada K. Soluble interleukin-6 receptor levels in pleural effusions. *Respir Med* 1996;90:329-32.
19. Stites D P, Terr AL, Parslow TG. *Medical Immunology*. 9<sup>th</sup> ed. Stamford: CT, Appleton and Lange, 1997.
20. Tilg H, Trehu E, Atkins MB. Interleukin-6 as an anti-inflammatory cytokine: reduction of circulating IL-1 receptor antagonist and soluble tumor necrosis factor receptor. *Blood* 1994;83:113-8.
21. Ruzek MC, Miller AH, Opal SM. Characterization of early cytokine responses in an interleukin-6 dependent pathway of endogenous glucocorticoid induction during murine cytomegalovirus infection. *J Exp Med* 1997; 185:1185-92.
22. Xing Z, Gauldie J, Cox G *et al.* IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest* 1998; 101:311-20.
23. Gary-Lee YC, Lane KB. The many faces of transforming growth factor- beta in pleural diseases. *Curr Opin Pulm Med* 2001; 7:173-9.
24. Grove CS, Lee YC. Vascular endothelial growth factor: the key mediator in pleural effusion formation. *Curr Opin Pulm Med* 2002;8:294-301.
25. Nasreen N, Mohammed KA, Hardwick J, Van Horn RD, Sanders KL, Doerschuk CM, Hott JW, Antony VB. Polar production of IL-8 by mesothelial cells promotes the transmesothelial immigration of neutrophil: role of intercellular adhesion molecule-1. *J Infect Dis* 2001; 183:1683-45.
26. Weissflog D, Kroegel C, Luttmann W, Grahmann PR, Hasse J. Leukocyte infiltration and secretion of cytokines in pleural drainage fluid after thoracic surgery: impaired cytokine response in malignancy and postoperative complications. *Chest* 1999;115:1604-10.
27. Vaz MAC, Chibante AMS, Vargas FS. Cytokines in Pleural Effusions in First 48 hours after Coronary Artery Bypass Surgery (CABG). *Chest* 2004;126:8965-8969S.