

Universidade Federal de Uberlândia

Instituto de Ciências Biomédicas

Programa de Pós-Graduação em Imunologia e parasitologia Aplicadas

Perfil das citocinas e correlação com a morbidade no período pós-operatório em crianças com diagnóstico de cardiopatias congênitas não cianosantes submetidas a cirurgia corretiva com circulação extracorpórea

Cláudio Ribeiro da Cunha

Doutorado

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
Instituto de Ciências Biomédicas  
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e parasitologia Aplicadas

CLAUDIO RIBEIRO DA CUNHA

Perfil das citocinas e correlação com a morbidade no período pós-operatório em  
crianças com diagnóstico de cardiopatias congênitas não cianosantes submetidas a  
cirurgia corretiva com circulação extracorpórea

Uberlândia  
2012

CLAUDIO RIBEIRO DA CUNHA

Perfil das citocinas e correlação com a morbidade no período pós-operatório em crianças com diagnóstico de cardiopatias congênitas não cianosantes submetidas a cirurgia corretiva com circulação extracorpórea

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Dr. José Roberto Mineo

Uberlândia

2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

C972p Cunha, Cláudio Ribeiro da, 1971-  
2012 Perfil das citocinas e correlação com a mórbida pós-operatória em crianças com diagnóstico de cardiopatias congênitas não cianosantes submetidas a cirurgia corretiva com circulação extracorpórea / Cláudio Ribeiro da Cunha. -- 2012.  
105 f. : il.

Orientador: José Roberto Mineo.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Inclui bibliografia.

1. Imunologia - Teses. 2. Cardiopatia congênita nas crianças - Teses. 3. Citocinas - Teses. 4. Sangue - Circulação extracorpórea - Teses. 5. Crianças - Cirurgia - Teses. 6. Cardiologia pediátrica - Teses. I. Mineo, José Roberto. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas. III. Título.

CDU:

612.017

---



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
 MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
 UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
 Instituto de Ciências Biomédicas  
 Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas  
[www.imunoparasito.ufu.br](http://www.imunoparasito.ufu.br) - E-Mail: [coipa@ufu.br](mailto:coipa@ufu.br) - Telefax: (034)3218-2333  
 Av. Pará 1720 - Campus Umuarama 38400-902 Uberlândia MG

CLÁUDIO RIBEIRO DA CUNHA

Perfil das citocinas e correlação com a morbidade no período pós-operatório em crianças com diagnóstico de cardiopatias congênitas não cianosantes submetidas a cirurgia corretiva com circulação extracorpórea

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de Doutor.

Área de concentração: Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Uberlândia, 27 de julho de 2012.

Banca Examinadora:

Dr. Fernando Antibas Atik  
 IC-DF/DF

Dr. Ricardo Ribeiro Dias  
 InCor-USP/SP

Dr. Jair Pereira da Cunha Júnior  
 ICBIM/UFU

Dr. Aguinaldo Coelho da Silva  
 FAMED/UFU

Dr. José Roberto Mineo - orientador  
 ICBIM/UFU

Aos meus pais...

Acredito que consegui concluir mais esta importante etapa de minha vida em função de dois conceitos que adquiri dos meus pais. Do meu pai, o conceito de que não se deve deixar esmorecer diante das adversidades, mas sim enfrentá-las, pois fazem parte da vida. Desde que me recordo sempre o vi agir dessa forma, e ainda vejo, enfrentando a batalha diária, muitas vezes sozinho, de cuidar de minha mãe. O outro conceito é o de que a vida só é realmente produtiva quando se está adquirindo, transmitindo ou produzindo conhecimento. De acordo com tal conceito, minha mãe foi uma das pessoas mais produtivas que conheci. Durante todos os anos que teve saúde ela trabalhou incansavelmente fundamentada neste conceito. Tenho certeza de que ela consideraria a conclusão desta etapa a conquista mais importante de minha vida.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. José Roberto Mineo, uma das raras pessoas que conheci que reúne competência, capacidade de trabalho, seriedade e serenidade. Acredito que a orientação vai além das particularidades técnicas, ela contribui para determinar o estado de espírito do orientado. Tenho certeza que só consegui concluir esta etapa em função das suas palavras de estímulo e confiança em vários momentos no decorrer desta caminhada. Sinceramente, muito obrigado!

À Dra. Deise Aparecida de Oliveira Silva, Dra. Ana Cláudia Pajuaba, Dr. Tiago Wilson Patriarca Mineo, pessoas extremamente disponíveis, de capacidade técnica inquestionável, pesquisadores natos. Sua contribuição foi fundamental para que eu conseguisse finalizar essa jornada.

À Neima, minha esposa, companheira de todas as horas, meu ponto de apoio mais sólido em todas as situações de adversidade nos últimos quase vinte anos. Mãe dos meus dois filhos, fez e ainda faz papel duplo de pai e mãe para ambos, incansavelmente, por incontáveis vezes nos momentos em que eu estive ausente para a realização deste e de outros projetos profissionais. Espero que as minhas ausências diminuam bastante mas que nossa cumplicidade se mantenha intacta pelo menos nos próximos cinquenta anos...

Ao Bruno e Caio, meus filhos, merecem mais do que qualquer outro um agradecimento pela compreensão imensurável. Compreensão pela minha ausência, em períodos cada vez mais longos e frequentes, ocasionada pela dedicação a este e a outros projetos profissionais. Quero que tenham certeza que eu gostaria que nossos momentos de convívio fossem muito mais frequentes e duradouros! Também estejam certos de que este convívio foi a minha maior fonte de estímulo para enfrentar este desafio e concluir esta etapa.

À Dra. Lourdes Fátima Gonçalves Gomes, cardiologista pediátrica de competência e dedicação ímpares. Sua ajuda foi fundamental em todas as fases dessa jornada, desde a elaboração do projeto até a conclusão final.

Aos amigos e colegas de trabalho em Uberlândia, em especial o Paulo César, companheiro de todas as lutas, desde o meu primeiro dia em Uberlândia como cirurgião.

Obrigado a todos pela ajuda nos inúmeros momentos em que eu precisei me ausentar para a realização deste trabalho.

À toda a equipe da Cardiologia Pediátrica e UTI pediátrica da UFU por todo o suporte que me foi dado para a realização deste trabalho.

À toda a equipe do centro cirúrgico da UFU e do laboratório de Imunologia da UFU que com sua colaboração viabilizaram a execução deste trabalho.

Aos amigos e colegas de trabalho do Instituto de Cardiologia de Brasília, em especial o Fernando Atik, um dos maiores incentivadores para que eu realizasse e concluísse este trabalho. Obrigado pela ajuda e compreensão em todos os períodos em que estive ausente.

Às secretarias Lucélia e Lucileide pela presteza em me ajudar todas as vezes que precisei.

A todos, que direta ou indiretamente, com sua contribuição, viabilizaram a realização deste trabalho.



“A verdadeira medida de um homem não é como ele se comporta em momentos de conforto e conveniência, mas como ele se mantém em tempos de controvérsia e desafio.”

(Martin Luther King)

## RESUMO

A cirurgia cardíaca pediátrica com auxílio da circulação extracorpórea (CEC) está associada a uma resposta inflamatória complexa, de intensidade variável. Em alguns casos tal reação pode desencadear uma disfunção de múltiplos órgãos resultando em morbidade e mortalidade significativas. Estudos prévios demonstraram a participação de citocinas tanto com perfil pró-inflamatório quanto anti-inflamatório na resposta inflamatória nesse grupo de pacientes, assim como sua relação com a morbidade no período pós-operatório (PO). O presente estudo teve os seguintes objetivos: delinear a cinética das concentrações plasmáticas de oito diferentes citocinas, determinar o impacto da hemotransfusão nesta cinética e avaliar a possível correlação da cinética das concentrações plasmáticas das citocinas com a morbidade no PO. A casuística foi constituída por um grupo de 19 crianças com diagnóstico de cardiopatias congênitas não cianosantes com sobrecarga de volume de ventrículo esquerdo e hiperfluxo pulmonar, classificadas como de baixo risco para mortalidade operatória, submetidas a cirurgia corretiva com CEC. Foram coletadas amostras sanguíneas das crianças incluídas no estudo em sete momentos diferentes: após a indução da anestesia mas antes do início da cirurgia (T0), cinco minutos após o início da CEC (T1), cinco minutos após a abertura da pinça da aorta (T2), ao final do procedimento cirúrgico (T3), quatro horas após o final da cirurgia (T4), primeiro dia de PO (T5) e segundo dia de PO (T6). Para cada amostra foi realizada a mensuração das concentrações plasmáticas da interleucina (IL)-2, interleucina (IL)-4, interleucina (IL)-6, interleucina (IL)-10, interleucina (IL)-17, fator de necrose tumoral (TNF)- $\alpha$ , interferon (IFN)- $\gamma$  e do fator inibidor da migração de macrófagos (MIF). Também foram avaliadas a transfusão de hemoderivados e oito variáveis relacionadas a morbidade: tempo de CEC, tempo de pinçamento aórtico, escore inotrópico, escore de TISS cumulativo, índice de oxigenação, volume de sangramento pós-operatório nas primeiras 48 horas, tempo de ventilação mecânica e tempo de internação na UTI no período pós-operatório. Considerando a cinética das concentrações plasmáticas das citocinas avaliadas, as concentrações de IL-6, IL-10 e MIF se modificaram significativamente em resposta ao procedimento cirúrgico. As concentrações de IL-6 se elevaram em T3, T4 e T5 e retornaram aos valores basais em T6. As concentrações de IL-10 se elevaram em T2, T3 e T4 e retornaram aos valores basais em T5. As concentrações de MIF se elevaram em T2 e T3, retornaram aos valores

basais em T4 e se elevaram novamente em T6. A transfusão de concentrado de hemácias não teve impacto nas concentrações plasmáticas de IL-6, IL-10 e MIF. As concentrações plasmáticas de IL-2, IL-4, IL-17, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  não se modificaram significativamente desde a indução da anestesia até o segundo dia de PO. Quanto a correlação das concentrações das citocinas com a morbidade no PO, foi detectada uma correlação positiva entre as concentrações plasmáticas de IL-6 e o escore inotrópico. Diferentemente do que ocorreu com a IL-6, não foram detectadas correlações entre as concentrações de IL-10 e MIF e o escore inotrópico. Também não foram detectadas correlações das concentrações de IL-6, IL-10 e MIF com as seguintes variáveis: tempo de CEC, tempo de pinçamento aórtico, escore de TISS cumulativo, índice de oxigenação, volume de sangramento pós-operatório nas primeiras 48 horas, tempo de ventilação mecânica e tempo de internação na UTI no pós-operatório. Portanto, neste grupo de pacientes avaliados, caracterizados como de baixo risco, foi encontrada uma elevação significativa das concentrações plasmáticas dos mediadores IL-6, IL-10 e MIF em resposta a intervenção cirúrgica corretiva. A transfusão de concentrado de hemácias não teve impacto nas concentrações plasmáticas desses mediadores. Também não foi encontrada uma correlação entre a elevação das concentrações destes mediadores e a maioria das variáveis perioperatórias e pós-operatórias relacionadas a morbidade que foram avaliadas.

**Palavras-chaves:** Cirurgia cardíaca pediátrica. Citocinas. Circulação extracorpórea. Inflamação.

## ABSTRACT

Pediatric cardiac surgery with cardiopulmonary bypass (CPB) induces a complex inflammatory reaction of variable intensity that, in severe cases, may lead to multiple organ dysfunctions, resulting in considerable morbidity and mortality. Previous studies have demonstrated the involvement of cytokines with both pro-inflammatory and anti-inflammatory profile in the inflammatory response in this group of patients, as well as its relationship to morbidity in the postoperative period. The present study aimed to delineate the kinetics of plasma concentrations of eight different cytokines, to determine the impact of blood transfusion on these kinetics and to evaluate the possible correlation of postoperative morbidity with these kinetics. This study evaluated a group of 19 children diagnosed with non-cyanotic congenital heart disease with volume overload of left ventricle and increased pulmonary blood flow, classified as low risk for operative mortality, undergone corrective surgery with CPB. Blood samples were taken in seven different times: after induction of anesthesia but prior to initiation of surgery (T0), five minutes after CPB beginning (T1), five minutes after the opening of the aortic clamp (T2), at the end of surgical procedure (T3), four hours after the end of surgery (T4), at the first postoperative day (T5) and at the second postoperative day (T6). For each sample was carried out the measurement of plasma concentrations of interleukin (IL) -2, interleukin (IL) -4, interleukin (IL) -6, interleukin (IL) -10, interleukin (IL) -17, tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , interferon (IFN)- $\gamma$  and macrophage migration inhibitory factor (MIF). We also evaluated blood transfusion and eight morbidity related variables: CPB time, aortic cross-clamping time, inotropic score, cumulative TISS score, oxygenation index, volume of postoperative bleeding in the first 48 hours, duration of mechanical ventilation and length of stay in intensive care unit (ICU) postoperatively. Considering the kinetics of the concentrations of the cytokines evaluated, the concentrations of IL-6, IL-10 and MIF significantly changed in response to the surgical procedure. The concentrations of IL-6 increased in T3, T4 and T5 and returned to baseline values at T6. The concentrations of IL-10 increased in T2, T3 and T4 and returned to baseline values at T5. Concentrations of MIF increased in T2 and T3, returned to baseline in T4 and rose again at T6. Red blood cell transfusion had no impact on plasma concentrations of IL-6, IL-10 and MIF. Plasma concentrations of IL-2, IL-4, IL-17, IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  did not change significantly since the induction of anesthesia to the second postoperative day.

Regarding the correlation of the concentrations of cytokines with morbidity in the postoperative period, we detected a positive correlation between plasma concentrations of IL-6 and inotropic score. Different from what occurred with IL-6, there were no correlations between the concentrations of IL-10 and MIF and inotropic score. We did not find any correlation among the concentrations of IL-6, IL-10 and MIF and the following variables: CPB time, aortic cross-clamping time, cumulative TISS score, oxygenation index, volume of postoperative bleeding in the first 48 hours, duration of mechanical ventilation and ICU length of stay. Therefore, for this group of patients, characterized as low risk, we have found a significant elevation of plasma concentrations of the mediators IL-6, IL-10 and MIF in response to corrective surgery. Packed red blood cells transfusion had no impact on plasma concentrations of these mediators. Also, no correlation was found between elevated concentrations of these mediators and the majority of morbidity related perioperative and postoperative variables that were evaluated.

**Keywords:** Pediatric cardiac surgery. Cytokines. Extracorporeal circulation. Inflammation.

## LISTA DE ABREVIATURA

AMPK :	<i>5' adenosine monophosphate-activated protein kinase</i>
CBA:	<i>Cytometric Bead Array</i>
CD74:	<i>cluster of differentiation 74</i>
CEC:	circulação extracorpórea
CIA:	comunicação interatrial
CIV:	comunicação interventricular
EDTA:	ácido etilenodiamino tetra-acético.
ELISA:	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ERK:	<i>extracellular signal-regulated kinases</i>
FiO2:	fração inspirada de oxigênio
HC-UFU:	Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia
IBGE:	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFN:	interferon
IL:	interleucina
JNK :	<i>c-Jun N-terminal kinases</i>
Kg:	kilograma
µg:	micrograma
MEQ:	miliequivalente
MG:	miligrama
MIF:	fator inibidor da migração de macrófagos
MIN:	minutos
ML:	mililitro
MUF:	ultrafiltração modificada
PaO2:	pressão parcial de oxigênio no sangue arterial
PG:	picograma
PO:	pós-operatório
SAPS II:	<i>simplified acute physiology score II</i>
SIRS:	síndrome de resposta inflamatória sistêmica
SOFA:	<i>sequential organ failure assessment</i>
SUS:	Sistema Único de Saúde
T0:	tempo zero

T1:	tempo 1
T2:	tempo 2
T3:	tempo 3
T4:	tempo 4
T5:	tempo 5
T6:	tempo 6
TCA:	tempo de coagulação ativado
TISS:	<i>therapeutic intervention scoring system</i>
TLR4:	<i>toll-like receptor 4</i>
TNF:	fator de necrose tumoral
UTI:	Unidade de Terapia Intensiva

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>20</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>21</b>
<b>3.1</b>	<b>Objetivos gerais .....</b>	<b>21</b>
<b>3.2</b>	<b>Objetivos específicos .....</b>	<b>21</b>
<b>4</b>	<b>PACIENTES E MÉTODOS .....</b>	<b>22</b>
<b>4.1</b>	<b>Pacientes .....</b>	<b>22</b>
<b>4.2</b>	<b>Métodos .....</b>	<b>23</b>
<b>4.2.1</b>	<i>Condução da anestesia .....</i>	<i>23</i>
<b>4.2.2</b>	<i>Condução da circulação extracorpórea e coleta de dados .....</i>	<i>24</i>
<b>4.2.3</b>	<i>Condução da cirurgia e cuidados no pós-operatório .....</i>	<i>25</i>
<b>4.2.4</b>	<i>Coleta e armazenamento das amostras sanguíneas .....</i>	<i>26</i>
<b>4.2.5</b>	<i>Mensuração das concentrações plasmáticas das citocinas .....</i>	<i>27</i>
<b>4.2.5.1</b>	<i>Ensaio para mensuração das concentrações plasmáticas de IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF-<math>\alpha</math> e IFN-<math>\gamma</math> .....</i>	<i>27</i>
<b>4.2.5.2</b>	<i>Ensaio para mensuração das concentrações plasmáticas de MIF .....</i>	<i>28</i>
<b>4.2.6</b>	<i>Avaliação dos desfechos clínicos .....</i>	<i>28</i>
<b>4.2.7</b>	<i>Análise estatística .....</i>	<i>32</i>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>33</b>
<b>5.1</b>	<b>Parâmetros clínicos pré-estabelecidos .....</b>	<b>33</b>
<b>5.2</b>	<b>Variáveis perioperatórias .....</b>	<b>33</b>
<b>5.3</b>	<b>Transfusão de hemoderivados .....</b>	<b>33</b>
<b>5.4</b>	<b>Infeção pós-operatória e mortalidade .....</b>	<b>34</b>
<b>5.5</b>	<b>Concentrações plasmáticas das citocinas .....</b>	<b>34</b>
<b>5.6</b>	<b>Correlação das concentrações plasmáticas de IL-6, IL-10 e MIF com parâmetros clínicos pré-estabelecidos e com variáveis perioperatórias .....</b>	<b>35</b>
<b>5.7</b>	<b>Comparação das concentrações plasmáticas de IL-6, IL-10 e MIF entre os grupos de crianças transfundidas x não transfundidas .....</b>	<b>36</b>



<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>37</b>
<b>6.1</b>	<b>Cinética das concentrações plasmáticas das citocinas .....</b>	<b>37</b>
<b>6.2</b>	<b>Correlação das concentrações plasmáticas de IL-6, IL-10 e MIF com parâmetros clínicos pré-estabelecidos e com variáveis perioperatórias .....</b>	<b>46</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>57</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>59</b>
	<b>APÊNDICE A - FIGURAS .....</b>	<b>66</b>
	<b>APÊNDICE B - TABELAS .....</b>	<b>83</b>
	<b>ANEXO A - Escore de TISS .....</b>	<b>85</b>
	<b>ANEXO B - Dados Clínicos individualizados .....</b>	<b>88</b>
	<b>ANEXO C - Resultados individualizados das mensurações das citocinas .....</b>	<b>97</b>
	<b>ANEXO D - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa .....</b>	<b>105</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Estima-se que seis a dez em cada 1000 nascidos vivos tenham alguma forma de cardiopatia congênita (HOFFMAN, 1990; PINTO JUNIOR et al., 2004). De acordo com o último censo do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2010 a população brasileira era de aproximadamente 191 milhões de habitantes e apresentava uma taxa de natalidade de 1,86%, o que resultou no nascimento de aproximadamente 3,5 milhões de crianças naquele ano, das quais 28.000 apresentavam algum tipo de cardiopatia congênita.

Apesar de avanços significativos relacionados ao diagnóstico e tratamento destas doenças, elas ainda são responsáveis por 46% da mortalidade das crianças com malformações congênitas e por 3% da mortalidade infantil global em países desenvolvidos (SADOWSKI, 2009). No Brasil, as malformações congênitas são responsáveis pelo óbito de cinco em cada 1000 nascidos vivos, e esta estatística se mantém praticamente inalterada desde o início da década de 1990 (VICTORA et al., 2011). É provável que essa estagnação dos índices de mortalidade relacionados às cardiopatias congênitas se deva pelo menos em parte a carência de Centros capacitados para o diagnóstico e tratamento das crianças portadoras dessas doenças (PINTO JUNIOR et al., 2004). Para cerca de 80% destas crianças a única forma de tratamento corretivo disponível é a correção cirúrgica aberta destas cardiopatias, realizada por meio de uma ou mais intervenções cirúrgicas (PINTO JUNIOR et al., 2004).

As correções cirúrgicas da ampla maioria dos defeitos cardíacos congênitos requerem o suporte da circulação extracorpórea (CEC). A instalação do circuito de CEC permite a manutenção da perfusão e oxigenação tecidual adequadas durante o período em que a correção do defeito estrutural cardíaco é realizada (KOUCHOKOS et al., 2003).

Os pacientes pediátricos submetidos a cirurgia para correção de cardiopatias congênitas com o uso de CEC estão sob risco de desenvolvimento de uma resposta inflamatória sistêmica (BUTLER et al., 1996) cuja intensidade varia amplamente. Enquanto alguns pacientes têm repercussão clínica mínima ou até imperceptível, outros evoluem com disfunção de múltiplos órgãos, apresentando um quadro clínico comparável àquele da sepse, resultando em taxas de morbidade e mortalidade tão altas quanto 30% e 4% respectivamente (TARNOK; SCHNEIDER, 2001). A incidência da

síndrome de resposta inflamatória sistêmica varia de 10% a 60% no pós-operatório (PO) da correção dessas cardiopatias (SEGHAYE et al., 1993, 1996).

Vários fatores têm sido relacionados ao desencadeamento da resposta inflamatória sistêmica no pós-operatório. Dentre eles pode-se citar o trauma cirúrgico relacionado a incisão e divulsão dos tecidos, a injúria de isquemia-reperfusão miocárdica relacionada ao pinçamento aórtico e administração de soluções cardioplégicas, a endotoxemia causada pela translocação bacteriana gastrointestinal durante a CEC, o contato do sangue com as superfícies artificiais não recobertas por endotélio do circuito de CEC, e ainda a presença de complexos heparina-protamina circulantes (HIRAI, 2003; VARAN et al., 2002). Esses fatores, em interação, desencadeiam uma resposta ampla, humoral e celular que envolve a ativação de várias cascatas como a do sistema do complemento (TARNOK et al., 1999), da coagulação, da fibrinólise (BACKMANN et al., 1979) e da calicreína-bradicinina (PANG et al., 1979). Concomitantemente ocorre a ativação de vários grupos celulares, entre eles, os leucócitos (monócitos/macrófagos, linfócitos e neutrófilos), células endoteliais e células musculares cardíacas. Neste contexto, têm participação particularmente relevante os monócitos/macrófagos, linfócitos, granulócitos neutrófilos e as células endoteliais. A ativação dessas células leva à expressão ou secreção de várias citocinas com atividades pró-inflamatórias tais como o fator de necrose tumoral (TNF)- $\alpha$ , interleucina (IL)-1, interleucina (IL)-6 e interleucina (IL)-8 ou anti-inflamatórias como a interleucina (IL)-10 (QING et al., 2003). O balanço entre as citocinas com perfil pró-inflamatório e anti-inflamatório e sua interação com as células do sistema imune inato e adaptativo representa um dos fatores responsáveis pela intensidade da apresentação e evolução da síndrome de resposta inflamatória sistêmica (HOVELS-GURICH, et al., 2002; MADHOK et al., 2006).

Algumas das citocinas enumeradas acima, particularmente ligadas ao braço inato do sistema imune, tais como IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  (atividade pró-inflamatória) e IL-10 (atividade anti-inflamatória) foram objeto de vários estudos nos últimos anos e têm sido implicadas na gênese de várias complicações que se apresentam no PO de cirurgia cardíaca relacionadas a inflamação, incluindo disfunções miocárdica, renal e pulmonar (ASHRAF et al., 1997; FRANKE et al., 2002; GASZ et al., 2006; MADHOK et al., 2006). Entretanto, o papel desempenhado por cada uma delas na fisiopatologia da síndrome de resposta inflamatória sistêmica após a cirurgia cardíaca com CEC ainda não está bem

definido. Isto se deve, pelo menos em parte, à complexidade e redundância dos mecanismos de resposta imune e mediadores da atividade inflamatória. Um outro fator que contribui é a heterogeneidade das populações avaliadas nestes estudos. Há variações significativas entre os estudos quanto a faixa etária das crianças avaliadas, técnica anestésica utilizada, uso e dosagem de corticosteroides e antifibrinolíticos, assim como o uso de ultrafiltração convencional ou modificada. Tais variações tornam difíceis as análises comparativas dos estudos.

Além do mais, algumas citocinas envolvidas na resposta inflamatória sistêmica aguda em um contexto geral, como a interleucina (IL)-17 e o fator inibidor da migração de macrófagos (MIF) ainda não foram avaliadas adequadamente no contexto da cirurgia cardíaca pediátrica.

A IL-17 tem papel importante na ativação de células do sistema imune inato e células residentes nos tecidos como fibroblastos e células epiteliais induzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas (MARTINEZ et al., 2008). Dessa forma a IL-17 induz a secreção de IL-6 e IL-8, ambas com papel relevante na reação inflamatória aguda (GAFFEN, 2008). Outro efeito atribuído à secreção de IL-17 é o recrutamento e subsequente ativação de neutrófilos durante a inflamação, (REYNOLDS; ANGKASEKWINAI; DONG, 2010) desempenhando assim um papel fundamental na regulação da imunidade inata. Apesar da existência de evidências na literatura demonstrando a participação da IL-17 na inflamação aguda em um contexto geral, não existem estudos que avaliem seu papel na reação inflamatória relacionada a cirurgia corretiva de cardiopatias congênitas com CEC em crianças. Dessa forma, ainda não foi determinada a cinética das concentrações plasmáticas e nem uma possível correlação da IL-17 com a morbidade no PO neste grupo de pacientes.

O MIF é uma citocina pleiotrópica com importante efeito regulatório na função de linfócitos e macrófagos. Sua participação foi demonstrada em reações inflamatórias agudas, como na orquestração da resposta que ocorre na endotoxemia (LUE et al., 2002). A secreção de MIF por células musculares cardíacas em resposta ao estresse oxidativo, como aquele descrito na injúria de isquemia-reperfusão também foi demonstrada por Yu e outros (2003). O possível papel do MIF na reação inflamatória em pacientes submetidos a cirurgia cardíaca com CEC foi avaliado em um número restrito de estudos (MENDONCA-FILHO et al., 2004, 2006; MERCHANT et al., 2008; STOPPE et al., 2012) os quais apresentam resultados controversos.

Considerando o envolvimento do MIF e IL-17 com células e mediadores ligados a reação inflamatória aguda e também os mecanismos celulares e moleculares da resposta inflamatória à cirurgia cardíaca com CEC elucidados até o momento, é possível formular a hipótese de que IL-17 e MIF possam estar envolvidos na resposta inflamatória sistêmica em crianças submetidas a correção de cardiopatias congênitas com CEC.

## 2 JUSTIFICATIVA

A reação inflamatória desencadeada pela correção cirúrgica de cardiopatias congênitas em crianças é um processo complexo, que resulta da interação de vários mediadores, entre eles as citocinas. A importância de se determinar o papel específico desempenhado por cada uma delas neste contexto reside na possibilidade de identificação de possíveis “alvos” de intervenções terapêuticas. Dessa forma, a possibilidade de bloquear a produção, a secreção ou a ação de mediadores cuja atividade esteja associada a uma maior incidência de complicações no PO, poderia resultar em uma diminuição da morbidade e mortalidade e consequente melhora do resultado cirúrgico. Considerando-se a prevalência das cardiopatias congênitas na população pediátrica assim como a carência de centros especializados em seu tratamento em nosso meio (PINTO JUNIOR et al., 2004), a diminuição da morbidade relacionada ao tratamento cirúrgico representaria uma significativa economia de recursos do Sistema único de Saúde (SUS) além de um indiscutível benefício para a população de crianças com diagnóstico de cardiopatias congênitas. Considerando o que foi exposto acima, o presente trabalho se propôs a avaliar a cinética plasmática de oito diferentes citocinas (interleucina (IL)-2, interleucina (IL)-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$ , interferon (IFN)- $\gamma$  e MIF), o impacto da transfusão de concentrado de hemácias nesta cinética e a possível correlação de desfechos clínicos relacionados à morbidade no período pós-operatório com as concentrações plasmáticas das citocinas.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivos gerais**

- a) Investigar o papel de IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e MIF na resposta inflamatória à intervenção cirúrgica para correção de cardiopatias congênitas com utilização de CEC, em crianças de baixo risco.
- b) Investigar a associação de IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF-alfa, IFN-gama e MIF com desfechos clínicos associados a morbidade pós-operatória em crianças de baixo risco submetidas à intervenção cirúrgica para correção de cardiopatias congênitas com utilização de CEC.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- a) Determinar as variações das concentrações plasmáticas das citocinas temporalmente correlacionadas a momentos chave da intervenção cirúrgica (indução da anestesia, início da CEC, reperusão miocárdica, final da cirurgia) e da recuperação pós-operatória (quatro, vinte e quatro, e quarenta e oito horas após o final da cirurgia) em crianças de baixo risco submetidas à cirurgia para correção de cardiopatias congênitas com utilização de CEC;
- b) Determinar a possível correlação positiva ou negativa entre os níveis plasmáticos das citocinas avaliadas cujas concentrações se modificaram significativamente em resposta a intervenção cirúrgica e oito variáveis diferentes relacionadas a morbidade no PO em crianças de baixo risco submetidas à cirurgia para correção de cardiopatias congênitas com utilização de CEC;
- c) Determinar o impacto da transfusão de concentrado de hemácias nas concentrações plasmáticas das citocinas avaliadas cujas concentrações se modificaram significativamente em resposta a intervenção cirúrgica em crianças de baixo risco submetidas à cirurgia para correção de cardiopatias congênitas com utilização de CEC.

## 4 PACIENTES E MÉTODOS

### 4.1 Pacientes

Este estudo foi conduzido de forma prospectiva no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU), no período de janeiro de 2008 a julho de 2009. A casuística foi constituída por dezenove crianças operadas de forma consecutiva, pela mesma equipe anestésica e cirúrgica, que se adequaram aos critérios de inclusão e exclusão do estudo.

Critérios de inclusão:

- a) faixa etária: entre um e dez anos de idade;
- b) Indicação cirúrgica eletiva;
- c) Assinatura pelos pais ou responsáveis legais do termo de Consentimento Livre e Esclarecido;
- d) Indicação cirúrgica de correção total da cardiopatia;
- e) Diagnóstico de cardiopatia congênita não cianosante, com sobrecarga de volume de ventrículo esquerdo e hiperfluxo pulmonar, incluída nas categorias de risco 1, 2 e 3 do método RACHS proposto por Jenkins e outros (2002).

Critérios de exclusão:

- a) sintomas ou sinais clínicos e/ou laboratoriais de processo inflamatório ou infeccioso em atividade;
- b) Transfusão de hemoderivados nos últimos trinta dias que antecederam a cirurgia;
- c) Uso de corticosteroide ou anti-inflamatório não hormonal nos últimos dez dias que antecederam a cirurgia;
- d) Pacientes submetidos a intervenções cirúrgicas cardíacas paliativas nos últimos dois meses;
- e) Pacientes submetidos a intervenções cirúrgicas gerais nos últimos dois meses;
- f) Pacientes com diagnóstico provável ou estabelecido de qualquer doença autoimune;
- g) Diagnóstico de qualquer lesão residual significativa hemodinamicamente no ecocardiograma realizado no primeiro dia de PO nas crianças operadas.



As características clínicas e demográficas dos pacientes incluídos no estudo estão expressas na Tabela 1 (Apêndice B). O diagnóstico das cardiopatias foi estabelecido considerando a avaliação clínica (anamnese associada ao exame físico) e os exames complementares (radiografia de tórax, eletrocardiograma e fundamentalmente o ecocardiograma transtorácico) realizados ou interpretados por um mesmo examinador. A confirmação diagnóstica foi realizada em todos os casos pela inspeção do coração realizada durante a cirurgia corretiva. Os defeitos mais frequentes foram aqueles relacionados aos septos interventricular (comunicação interventricular – CIV) e interatrial (comunicação interatrial – CIA) isoladamente ou aqueles defeitos relacionados ao coxim endocárdico (defeitos do septo atrioventricular nas formas completa ou parcial). Crianças com combinações de defeitos também foram incluídas desde que o distúrbio hemodinâmico resultante da combinação fosse o hiperfluxo pulmonar e a sobrecarga de volume de ventrículo esquerdo.

Os 19 pacientes incluídos no estudo foram classificados de acordo com a estratificação de risco do método RACH-S:

- a) Categoria 1: sete pacientes;
- b) Categoria 2: nove pacientes;
- c) Categoria 3: três pacientes.

## **4.2 Métodos**

### **4.2.1 *Condução da anestesia***

Todas as intervenções cirúrgicas foram realizadas de forma eletiva, e as crianças internadas no dia anterior a realização do procedimento. A condução da anestesia foi feita de acordo com o protocolo do Serviço de Cirurgia Cardíaca Pediátrica do HC-UFU, não sofrendo qualquer alteração em função do protocolo de pesquisa. Todas as anestесias foram realizadas por um mesmo anestesiolista.

Os pacientes recebiam medicação pré-anestésica (midazolam) por via oral na dose de 0,7 mg/Kg uma hora antes do início da cirurgia e a seguir eram encaminhados ao centro cirúrgico. A monitorização era constituída por eletrocardiograma contínuo em três derivações, oxímetro de pulso, sensor de temperatura retal e esofágica, capnógrafo, cateter venoso central, cateter intra-arterial e sonda vesical de demora.

A indução anestésica era feita por via intravenosa com a administração de midazolam (na dose de 0,5 mg/kg de peso), citrato de fentanila (na dose de 10 µg/kg de peso) e brometo de pancurônio (na dose de 0,1 mg/kg de peso). A manutenção da anestesia era realizada com sevoflurano a 2% e brometo de pancurônio (na dose de 0,05 mg/kg de peso, de forma intermitente) quando necessário.

No momento da indução da anestesia eram administrados ainda antimicrobiano (cefazolina na dose de 50 mg/kg de peso), corticosteroide (metilprednisolona na dose de 15 mg/kg de peso) e agente antifibrinolítico (ácido tranexânico na dose de 20mg/kg de peso).

#### **4.2.2 Condução da circulação extracorpórea e coleta de dados**

O circuito da circulação extracorpórea era constituído por um sistema de tubos de 1/4 ou 3/16 de polegada de acordo com o peso da criança, um oxigenador de membrana, um reservatório venoso, um permutador de calor, um filtro de linha arterial, um hemoconcentrador e um módulo para infusão de solução cardioplégica fabricados pela Nipro®. O circuito era montado de modo que possibilitasse a realização da ultrafiltração modificada (MUF) ao final do procedimento cirúrgico.

O “priming” do circuito era constituído por solução de ringer lactato, solução de manitol a 20% na dose de 2,5 ml/kg de peso, solução de bicarbonato de sódio a 8,4% na dose de 1 meq/kg de peso e solução de albumina humana a 20% na dose de 5ml/Kg de peso. Em todos os pacientes eram realizados cálculos antes do início da CEC para estimar o provável hematócrito resultante da mistura da volemia do paciente com o “priming” do circuito de CEC. Naqueles casos em que os cálculos previam um hematócrito de CEC abaixo de 25% era adicionado volume de concentrado de hemácias suficiente para manter o hematócrito em torno de 25% durante a CEC. Em nenhum caso foi adicionado plasma fresco ao “priming”.

Imediatamente antes do início da CEC era administrada heparina na dose de 4 mg/Kg de peso no átrio direito pelo cirurgião. Após cinco minutos era coletada uma amostra sanguínea do cateter venoso central para realização da mensuração do tempo de coagulação ativado (TCA). Constatado um valor de TCA acima de 450 segundos, posicionavam-se as cânulas para estabelecimento da CEC. A inserção das cânulas era realizada de forma convencional, com posicionamento de cânulas na aorta ascendente,

veia cava superior e veia cava inferior através do átrio direito. A CEC era conduzida em hipotermia leve, com temperatura entre 32 a 34 °C, com fluxo arterial de 2,5 a 2,8 litros por minuto por metro quadrado de superfície corpórea e drenagem venosa por sifonagem sem auxílio de vácuo. Após o término da circulação extracorpórea iniciava-se a ultrafiltração modificada, que era mantida até que o balanço hídrico estivesse zerado. A proteção miocárdica durante o período de pinçamento aórtico era obtida por meio da utilização de solução cardioplégica sanguínea fria, a qual era constituída por sangue oxigenado e resfriado a 5 °C adicionado de solução número 2 do Hospital de Saint Thomas. A solução era administrada na dose de 30 mg/Kg de peso na fase de indução e de 15 mg/Kg de peso na fase de manutenção a cada 15 minutos, infundida por via anterógrada. Ao final da CEC, após a retirada das cânulas era administrado sulfato de protamina na dose de 1:1 (1 mg de sulfato de protamina para cada 1 mg de heparina administrada ao paciente) para reversão do efeito anticoagulante da heparina.

A circulação extracorpórea também era conduzida de acordo com o protocolo convencional utilizado no Serviço de Cirurgia Cardíaca do HC-UFU, sem sofrer qualquer influência do protocolo de pesquisa.

Os dados relativos ao tempo de circulação extracorpórea, tempo de pinçamento da aorta e necessidade de transfusão de hemoderivados foram registrados para os pacientes incluídos no estudo.

#### ***4.2.3 Condução da cirurgia e cuidados no pós-operatório***

A Técnica cirúrgica e o manuseio do paciente no pós-operatório na unidade de terapia intensiva (UTI) e enfermaria de pediatria eram feitos de acordo com as rotinas já estabelecidas. Todas as cirurgias foram realizadas por um mesmo cirurgião.

A abordagem de cada paciente era feita de forma individualizada, considerando-se em conjunto as rotinas, o defeito cardíaco específico do paciente e a condição e resposta clínica aos tratamentos instituídos.

Independentemente da evolução clínica, todos os pacientes eram submetidos a avaliação ecocardiográfica no primeiro dia de PO para detecção de eventuais defeitos cardíacos residuais que pudessem influenciar na evolução.

No PO, a indicação de retirada da cânula oro-traqueal e descontinuação da ventilação mecânica era feita naqueles pacientes que apresentavam os seguintes

critérios: nível de consciência adequado, estabilidade hemodinâmica sem necessidade de altas doses de suporte inotrópico ou vasopressor, ausência de sangramento significativo pelos drenos, radiografia de tórax compatível com funções cardíaca e pulmonar adequadas e gasometria arterial mostrando uma relação entre a pressão parcial de oxigênio no sangue e a fração inspirada de oxigênio (índice de oxigenação) igual ou maior que 200.

A partir do momento da chegada da criança na UTI, até a retirada completa do suporte inotrópico endovenoso, as modificações nas dosagens das drogas inotrópicas eram realizadas após a avaliação em conjunto dos seguintes parâmetros: perfusão tecidual periférica, ausculta cardíaca e pulmonar, avaliação dos pulsos periféricos, avaliação de gradiente térmico entre as porções central e periférica do corpo, pressão arterial sistêmica, pressão venosa central, débito urinário, concentrações séricas de ureia e creatinina, saturação venosa de oxigênio. Informações adicionais fornecidas pelo ecocardiograma e radiografia de tórax também eram utilizadas quando disponíveis.

O tempo de permanência na UTI era determinado pelas evoluções clínicas dos pacientes. A avaliação diária e determinação das condições de alta eram realizadas pela equipe da UTI de acordo com suas rotinas, independentemente da participação no estudo. Os pacientes eram considerados em condições de alta da UTI quando preenchiam os seguintes critérios: estabilidade hemodinâmica sem uso de drogas inotrópicas por via endovenosa, ventilação espontânea sem uso de oxigênio ou com necessidade de oxigênio suplementar em baixas concentrações, nível de consciência adequado, função renal estável.

#### **4.2.4 Coleta e armazenamento das amostras sanguíneas**

Para cada paciente incluído no estudo eram coletadas amostras sanguíneas, cujo volume era de 2 ml, do cateter venoso central em sete momentos ou tempos (T) diferentes assim pré-determinados:

- a) Tempo zero (T0) – Após a indução da anestesia, mas antes da incisão da pele;
- b) Tempo 1 (T1) – Cinco (5) minutos após o início da CEC;
- c) Tempo 2 (T2) – Cinco (5) minutos após a abertura da pinça da aorta;
- d) Tempo 3 (T3) – Ao final do procedimento cirúrgico;
- e) Tempo 4 (T4) – Quatro (4) horas após o final do procedimento cirúrgico;

- f) Tempo 5 (T5) – Primeiro dia de pós-operatório (1º PO);
- g) Tempo 6 (T6) – Segundo dia de pós-operatório (2º PO).

Imediatamente após a coleta, o sangue era armazenado em um frasco contendo anticoagulante (ácido etilenodiamino tetra-acético - EDTA), que por sua vez era armazenado em recipiente com refrigeração e isolamento térmico e transportado por um dos componentes responsáveis pela pesquisa para o Laboratório de Imunologia da Universidade Federal de Uberlândia situado no mesmo Campus do Hospital de Clínicas. Em seguida esta amostra de sangue era centrifugada por cinco minutos, utilizando-se uma força centrífuga relativa de 700 g, e armazenada em condições adequadas de refrigeração a -80°C até a realização dos ensaios para mensuração das citocinas.

#### **4.2.5 Mensuração das concentrações plasmáticas das citocinas**

Em todas as amostras colhidas e armazenadas eram mensuradas as concentrações plasmáticas das seguintes citocinas: IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e MIF.

##### **4.2.5.1 Ensaio para mensuração das concentrações plasmáticas de IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$ e IFN- $\gamma$**

As concentrações plasmáticas de IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF-alfa e IFN-gama eram determinadas por meio da utilização de um “kit” de “cytometric bead array” (CBA Th1, Th2, Th17; BD Biosciences, San Jose, CA, USA) de acordo com as instruções do fabricante. De forma resumida, as amostras de plasma eram incubadas com misturas de “beads” de captura para cada uma das citocinas avaliadas. Em seguida, as amostras eram incubadas com anticorpos anti-citocina humana conjugados com ficoeritrina, por um período de três horas em temperatura ambiente. Após centrifugação, o sobrenadante era cuidadosamente aspirado e os sedimentos contendo as “beads” eram suspensos e analisados em citometria de fluxo (FACS Canto II, BD Company, San Diego, CA, USA). Os dados eram analisados utilizando-se o “BD™ Cell Quest” e o “CBA software”. Os resultados eram expressos em picogramas por mililitro (pg/ml) e determinados por extrapolação da curva padrão para cada citocina avaliada. A sensibilidade deste ensaio era diferente para cada citocina. A sensibilidade para IL-2 era determinada como de 2,6

pg/ml, para IL-4 como de 4,9 pg/ml, para IL-6 como de 2,4 pg/ml, para IL-10 como de 4,5 pg/ml, para TNF- $\alpha$  como de 1,8 pg/ml, para IFN- $\gamma$  como de 1,7 pg/ml e para IL-17 como de 2,1 pg/ml.

#### **4.2.5.2 Ensaio para mensuração das concentrações plasmáticas de MIF**

As concentrações plasmáticas de MIF eram determinadas por meio da utilização de um ensaio ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) com sanduiche de duplo anticorpo conforme descrito por Gomes e outros (2011) com modificações. Placas eram cobertas por anticorpo monoclonal anti-MIF humano (R&D Systems Europe Ltd., Abingdon, Oxfordshire, England), bloqueadas e incubadas com amostras de plasma por duas horas em temperatura ambiente. Após a lavagem, as placas eram incubadas com anticorpos de detecção biotinilados anti-MIF humano (R&D Systems Europe Ltd.) por um período de duas horas em temperatura ambiente. O ensaio era desenvolvido com a utilização do conjugado estreptoavidina marcada com peroxidase (Zymed Laboratories, Inc., South San Francisco, CA) e revelado com “3,3’, 5,5’-tetramethylbenzidina” (Zymed Laboratories, Inc.). As concentrações de MIF eram determinadas pela extrapolação de uma curva padrão obtida por meio de concentrações conhecidas de uma amostra de referência de MIF recombinante (R&D Systems Europe Ltd.). A sensibilidade deste ensaio era determinada como de 18 pg/ml. Os coeficientes de variação interensaio e intra-ensaio foram inferiores a 10%.

#### **4.2.6 Avaliação dos desfechos clínicos**

Foram pré-determinados seis parâmetros clínicos, os quais se relacionam de alguma forma com morbidade pós-operatória. Tais parâmetros foram posteriormente avaliados quanto a possível correlação com os níveis plasmáticos das citocinas cujas concentrações plasmáticas se alteraram significativamente ao final do procedimento cirúrgico. Estes parâmetros estão assim relacionados:

*A. Escore TISS ("therapeutic Intervention Scoring System") cumulativo nos primeiros três dias*

O escore TISS foi proposto inicialmente em 1974 e atualizado em 1983 por Keene e Cullen (1983), com o objetivo de classificar pacientes críticos e se tornou um método amplamente aceito. O escore possibilita a classificação e comparação de diferentes pacientes quanto a sua gravidade considerando a extensão das medidas terapêuticas utilizadas no decorrer de seu tratamento. De acordo com a metodologia do escore, definiram-se 74 diferentes possíveis intervenções terapêuticas em um paciente crítico e atribuiu-se a cada uma delas uma pontuação que varia de um a quatro (Anexo A). O valor do escore TISS para um determinado paciente é obtido pela somatória das pontuações relacionadas às intervenções terapêuticas que estão presentes naquele paciente em determinado momento, de cada uma das 74 possíveis. No presente estudo o escore TISS foi avaliado em três momentos diferentes em cada paciente: no momento da admissão na UTI no PO imediato, na manhã do primeiro dia de PO e na manhã do segundo dia de PO. A somatória dos valores obtidos nestes três momentos será definido como o escore TISS cumulativo nos primeiros três dias e utilizado como um dos parâmetros de morbidade pós-operatória. Os critérios para indicação de utilização nos pacientes de qualquer uma das intervenções terapêuticas eram aqueles já definidos no protocolo padrão de manuseio do paciente no PO de correção de cardiopatia congênita utilizado na UTI pediátrica, não sofrendo qualquer interferência em virtude da realização deste estudo.

*B. Escore inotrópico*

O escore inotrópico foi proposto por Wernovsky e outros (1995) com o objetivo de quantificar a intensidade do suporte inotrópico requerido por cada paciente no PO de correção cirúrgica de cardiopatias congênitas e possibilitar a comparação entre os pacientes. De acordo com o proposto foi estabelecida uma equivalência arbitrária, considerando doses, entre dopamina e dobutamina e uma equivalência de 10 µg/Kg/minuto de qualquer uma destas com 0,1 µg/Kg/minuto de adrenalina. O escore é obtido pela somatória das doses dos inotrópicos que o paciente esteja recebendo. No presente estudo foi definido que o escore inotrópico seria obtido pela somatória das doses de inotrópicos recebidos pelo paciente desde a sua admissão a UTI até o segundo dia de PO. Os critérios utilizados para indicação ou suspensão do uso de determinado

inotrópico assim como a modificação de sua dosagem eram aqueles já utilizados pela UTI pediátrica de acordo com o protocolo de manuseio pós-operatório, conforme descrito no item referente a metodologia da condução cirúrgica e cuidados pós-operatórios, não sofrendo qualquer modificação em função do presente estudo.

#### *C. Índice de oxigenação (relação $PaO_2/FiO_2$ )*

O índice de oxigenação é definido pela relação entre a pressão parcial de oxigênio no sangue arterial ( $PaO_2$ ) mensurada por meio da gasometria arterial e a fração inspirada de oxigênio ( $FiO_2$ ) pelo paciente, em determinado momento. Esta medida reflete a eficácia da troca gasosa alveolar pulmonar naquele momento. No presente estudo, o cálculo do índice de oxigenação era realizado utilizando-se os valores de  $PaO_2$  e  $FiO_2$  obtidos após a admissão e estabilização do paciente na UTI pediátrica, ainda no pós-operatório imediato. A justificativa para utilização do índice de oxigenação nas primeiras horas de PO como parâmetro se deve ao fato de se tratar de casuística constituída por crianças de baixo risco (categorias 1, 2 e 3 do método RACHS proposto por Jenkins e outros (2002) e dessa forma com possibilidade de extubação precoce, nas primeiras horas de PO. Após a extubação a aferição da  $FiO_2$  torna-se menos precisa devido a utilização de dispositivos tais como máscaras e cateteres, podendo tornar impreciso o cálculo do índice de oxigenação.

O protocolo de manuseio de ventilação mecânica, incluindo modos de ventilação utilizados e manobras de recrutamento alveolar, empregado no presente estudo era aquele já utilizado na UTI pediátrica para o tratamento de pacientes no PO de correção de cardiopatias congênitas aplicado de maneira uniforme a todos os pacientes.

#### *D. Volume de sangramento no pós-operatório*

O volume de sangramento no PO foi definido neste estudo como a somatória do débito pelos drenos posicionados no mediastino ou espaços pleurais, desde o momento da admissão do paciente na UTI pediátrica até o final do segundo dia de PO ou a retirada dos drenos se esta ocorresse antes do segundo dia de PO. Possíveis intervenções que pudessem interferir no volume de sangramento pós-operatório tais como reposição de fatores de coagulação na forma de hemoderivados (crioprecipitado, plasma fresco, concentrado de plaquetas) eram utilizadas rigorosamente de acordo o protocolo de



condução destes pacientes da UTI pediátrica, de maneira uniforme para todos os pacientes e sem qualquer modificação em função deste estudo.

#### *E. Tempo de ventilação mecânica*

O tempo de ventilação mecânica foi definido neste estudo como o tempo, em horas, decorrido desde a admissão do paciente a UTI pediátrica até a sua extubação com sucesso. Os critérios de desmame da ventilação mecânica e extubação utilizados em todos os pacientes seguiam o protocolo padrão da UTI pediátrica conforme descrição no item referente a metodologia da condução da cirurgia e cuidados no pós-operatório.

#### *F. Tempo de permanência na UTI*

O tempo de permanência na UTI foi definido neste estudo como o número de dias completos em que o paciente permaneceu na UTI desde o momento da admissão. Os critérios utilizados para determinação do momento em que o paciente tinha condições de alta da UTI seguiam o protocolo padrão da UTI pediátrica, conforme descrição no item referente a metodologia da condução da cirurgia e cuidados no pós-operatório.

Além dos parâmetros enumerados acima, todos os pacientes eram acompanhados até a alta hospitalar com vigilância rigorosa quanto ao surgimento de sinais e ou sintomas que pudessem estar associados a infecção. Os diagnósticos de infecção de ferida pós-operatória, pneumonia, infecção do trato urinário eram determinados de acordo com os critérios da comissão de controle de infecção hospitalar do Hospital de Clínicas da UFU.

Em nosso estudo fizemos a opção por não utilizar o diagnóstico de síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SIRS) como um parâmetro relacionado a morbidade no PO. Os critérios para diagnóstico da SIRS utilizados em crianças foram propostos por Goldstein e outros (2005) e são os seguintes:

- a) Febre ou hipotermia;
- b) Leucocitose ou leucopenia;
- c) Taquicardia ou bradicardia;
- d) Taquipneia ou necessidade de ventilação mecânica;
- e) O diagnóstico de SIRS é estabelecido quando dois dos quatro critérios estão presentes, sendo que a presença dos critérios “a” ou “b” são sempre necessárias.

A justificativa para não utilização da SIRS como parâmetro de morbidade se deve a dificuldade em se avaliarem os critérios que determinam o seu diagnóstico no contexto do PO de cirurgia cardíaca. A leucocitose deixa de ser um critério adequado nestes pacientes considerando-se que todos recebiam uma dose de 15/mg/Kg de peso de metilprednisolona, a qual está relacionada a leucocitose independentemente de uma resposta inflamatória. A taquicardia e bradicardia também não são critérios confiáveis, haja vista que no PO, frequentemente os pacientes recebem infusão de drogas que induzem taquicardia ou estão sob estímulo de marca-passo artificial. Da mesma forma, a necessidade de ventilação mecânica no PO está relacionada a outros fatores tais como efeito residual de drogas anestésicas e estado hemodinâmico além de um possível efeito de resposta inflamatória.

#### **4.2.7 Análise estatística**

As variáveis contínuas foram apresentadas como médias ( $\pm$ desvio padrão) e medianas. Para a avaliação de variações sequenciais nas concentrações das citocinas circulantes estudadas foi utilizada a análise de variância para medidas repetidas (ANOVA) com o pós teste de Bonferroni. Para comparação das concentrações de citocinas entre os grupos de crianças transfundidas e não transfundidas foi utilizado o teste de Mann-Whitney. A intensidade da correlação entre as concentrações plasmáticas das citocinas e os desfechos clínicos foi avaliada com utilização do teste de correlação de Spearman. Os valores de probabilidade menor que 0,05 foram considerados estatisticamente significantes. Todos os cálculos foram realizados utilizando-se o programa GraphPad Prisma versão 4.0 (GraphPad Software, Inc., san Diego, CA, EUA).

## **5 RESULTADOS**

### **5.1 Parâmetros clínicos pré-estabelecidos**

Os seis parâmetros clínicos pré-estabelecidos (escore de TISS cumulativo nos primeiros três dias, escore inotrópico, índice de oxigenação, volume de sangramento no PO, tempo de ventilação mecânica e tempo de permanência na UTI) foram obtidos de forma prospectiva. As informações relacionadas a todos os pacientes foram coletadas e registradas por um mesmo observador. Os dados expressam, de forma geral, uma evolução clínica dos pacientes caracterizada por uma baixa morbidade, com tempos de ventilação mecânica (mediana de quatro horas) e de permanência na UTI (mediana de 2 dias) relativamente curtos. A evolução com baixa morbidade também se caracterizou por valores relativamente baixos para o escore de TISS (mediana de 47,5), escore inotrópico (mediana de 12) e volume de sangramento no PO (mediana de 9,7 ml/kg) e valores elevados para o índice de oxigenação (mediana de 318). A descrição detalhada dos parâmetros clínicos está expressa na Tabela 2 (Apêndice B).

### **5.2 Variáveis perioperatórias**

Duas variáveis perioperatórias foram avaliadas e registradas para cada paciente: o tempo de duração da circulação extracorpórea e o tempo de duração do pinçamento aórtico. Os tempos relativamente curtos de CEC (mediana de 42 minutos) e de pinçamento aórtico (mediana de 28,5 minutos) refletem a baixa complexidade de nossa casuística no que se refere a técnica de correção cirúrgica. Estes dados estão expressos na Tabela 2 (Apêndice B).

### **5.3 Transfusão de hemoderivados**

Das 19 crianças incluídas neste estudo, doze (63%) receberam transfusão de concentrado de hemácias (volume mínimo de 150 ml e máximo de 300 ml). Em todas as situações o concentrado de hemácias foi adicionado ao “priming” do circuito de CEC com o objetivo de manter o hematócrito final durante a CEC acima de 25%. Destas doze crianças, seis (31% das crianças incluídas no estudo) receberam também transfusão de

plasma fresco (volume mínimo de 60 ml e máximo de 200 ml). Em todas as vezes a infusão de plasma teve o objetivo de tratamento de distúrbio de coagulação no período perioperatório. Nenhum dos pacientes recebeu transfusão de concentrado de plaquetas ou crioprecipitado. Sete pacientes (36%) não receberam nenhum tipo de hemoderivado.

#### **5.4 Infecção pós-operatória e mortalidade**

A incidência de infecção pós-operatória de acordo com os critérios estabelecidos foi de aproximadamente 15% (3 pacientes). Dois pacientes apresentaram infecção superficial de ferida operatória e um paciente apresentou infecção do trato urinário. Todos receberam tratamento com antimicrobianos e apresentaram boa resposta. Não houve óbitos no grupo estudado durante o período de internação hospitalar.

#### **5.5 Concentrações plasmáticas das citocinas**

Foram detectadas alterações significativas nas concentrações plasmáticas de MIF, IL-6 e IL-10 após o início da CEC quando comparadas com os valores basais mensurados no momento da indução da anestesia, imediatamente antes do início da cirurgia.

A média das concentrações plasmáticas de MIF se elevou de forma significativa imediatamente após a abertura da pinça da aorta (86,2 versus 284 pg/ml) permanecendo significativamente elevada ao final da cirurgia (310,6 pg/ml). As concentrações de MIF mensuradas quatro horas após o término da cirurgia (141,2 pg/ml) e no primeiro dia de PO (112,1 pg/ml) não foram significativamente diferentes da concentração basal (86,2 pg/ml). Os níveis plasmáticos de MIF se elevaram novamente no segundo dia de PO de forma significativa em relação aos níveis basais (86,2 versus 304,4 pg/ml). A cinética das concentrações plasmáticas de MIF desde a indução anestésica até o segundo dia de PO encontra-se demonstrada na Figura 1 (Apêndice A).

A média das concentrações plasmáticas de IL-6 se elevou significativamente ao final do procedimento cirúrgico (6,8 versus 123,6 pg/ml) permanecendo elevada na quarta hora de PO (50,2 pg/ml) e no primeiro dia de PO (679,9 pg/ml). A partir de então sofre um descenso e os níveis plasmáticos no segundo dia de PO não são estatisticamente diferentes dos valores basais (6,8 versus 12,7 pg/ml). A cinética das

concentrações plasmáticas de IL-6 desde a indução anestésica até o segundo dia de PO encontra-se demonstrada na Figura 2 (Apêndice A).

A média das concentrações plasmáticas de IL-10 se elevou de forma significativa imediatamente após a abertura da pinça da aorta (6,1 versus 95,4 pg/ml) permanecendo elevada ao final do procedimento cirúrgico (1030 pg/ml) e na quarta hora de pós-operatório (106,3 pg/ml). A partir daí sofre uma queda, e os níveis mensurados no primeiro e segundo dias de PO não são estatisticamente diferentes dos níveis basais. A cinética das concentrações plasmáticas de IL-10 desde a indução anestésica até o segundo dia de PO encontra-se demonstrada na Figura 3 (Apêndice A).

As médias das concentrações plasmáticas de IL-2, IL-4, IL-17, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  não apresentaram alterações estatisticamente significativas nas mensurações realizadas desde a indução da anestesia até o segundo dia de PO. As cinéticas das concentrações plasmáticas de IL-2, IL-4, IL-17, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  estão demonstradas nas Figuras 4, 5, 6, 7 e 8 respectivamente (Apêndice A).

## **5.6 Correlação das concentrações plasmáticas de IL-6, IL-10 e MIF com parâmetros clínicos pré-estabelecidos e com variáveis perioperatórias**

Apenas três (IL-6, IL-10 e MIF) das oito citocinas avaliadas apresentaram alterações significativas de suas concentrações plasmáticas com relação aos valores basais após a intervenção cirúrgica e a CEC (Figuras 1, 2 e 3 - Apêndice A). A existência de correlação entre a média das concentrações plasmáticas destas três citocinas (IL-6, IL-10 e MIF) mensuradas ao final da cirurgia e seis parâmetros clínicos pré-estabelecidos (escore de TISS cumulativo nos três primeiros dias, escore inotrópico, índice de oxigenação, volume de sangramento no PO, tempo de ventilação mecânica e tempo de permanência na UTI) e duas variáveis perioperatórias (tempo de CEC e tempo de pinçamento aórtico) foi então avaliada.

Os gráficos demonstrando a avaliação das correlações das concentrações plasmáticas de IL-6 com os parâmetros clínicos pré-estabelecidos e com as variáveis perioperatórias estão demonstrados nas Figuras 9 e 10 (Apêndice A). Conforme a Figura 9 (Apêndice A), foi encontrada uma correlação positiva (coeficiente de correlação de 0,503;  $p < 0,05$ ) entre os níveis plasmáticos de IL-6 e o escore inotrópico. Não foi

detectada correlação dos níveis de IL-6 com nenhum dos outros parâmetros clínicos e variáveis perioperatórias avaliados (Figuras 9 e 10 - Apêndice A).

A avaliação das correlações das concentrações plasmáticas de IL-10 com as variáveis perioperatórias e os parâmetros clínicos pré-estabelecidos está demonstrada nos gráficos das Figuras 11 e 12 (Apêndice A). A mesma avaliação referente as concentrações plasmáticas de MIF está demonstrada nos gráficos das Figuras 13 e 14 (Apêndice A). De acordo com os gráficos mostrados não foi detectada correlação das concentrações plasmáticas de IL-10 e MIF com nenhum dos parâmetros clínicos e variáveis perioperatórias avaliadas.

### **5.7 Comparação das concentrações plasmáticas de IL-6, IL-10 e MIF entre os grupos de crianças transfundidas x não transfundidas**

Das 19 crianças incluídas no estudo, 12 foram submetidas a transfusão de concentrado de hemácias enquanto sete não receberam tal transfusão. Foram então estabelecidos dois grupos: transfusão e não transfusão. A seguir, as concentrações plasmáticas de IL-6, IL-10 e MIF nos dois grupos foram comparadas em todos os momentos em que estas citocinas foram mensuradas (de T0 até T6). As concentrações de IL-6 no grupo não transfusão foram superiores as concentrações de IL-6 no grupo transfusão em T1 (cinco minutos após o início da CEC) conforme pode ser visto na Figura 15 (Apêndice A). Em todos os outros momentos avaliados (T0, T2, T3, T4, T5 e T6) as concentrações plasmáticas de IL-6 não foram estatisticamente diferentes nos grupos transfusão e não transfusão (Figura 15 - Apêndice A). De forma semelhante à IL-6, as concentrações plasmáticas de IL-10 no grupo não transfusão foram superiores as concentrações de IL-10 no grupo transfusão em T1 (Figura 16 - Apêndice A). Nos demais momentos em que as concentrações de IL-10 foram avaliadas (T0, T2, T3, T4, T5 e T6) não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos (Figura 16 - Apêndice A). As concentrações plasmáticas de MIF nos grupos transfusão e não transfusão foram estatisticamente semelhantes em todos os momentos avaliados (T0, T1, T2, T3, T4, T5 e T6) conforme demonstrado na Figura 17 (Apêndice A).

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Cinética das concentrações plasmáticas das citocinas

No presente estudo foi avaliada a cinética das concentrações plasmáticas de IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, MIF, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , por meio da mensuração de tais concentrações em sete momentos distintos da intervenção cirúrgica e recuperação pós-operatória em um grupo de 19 crianças com diagnóstico de cardiopatia congênita cuja repercussão funcional se caracterizava por hiperfluxo pulmonar e sobrecarga de volume de ventrículo esquerdo. Tais crianças foram consideradas de baixo risco para mortalidade hospitalar de acordo com o método RACH-S proposto por Jenkins e outros (2002). Todas as crianças incluídas no estudo se enquadravam nas categorias 1, 2 e 3 do método RACH-S. Cada uma das citocinas avaliadas apresentou uma cinética distinta, sendo que IL-6, IL-10 e MIF apresentaram modificações significativas em suas concentrações plasmáticas durante o período avaliado que se estendeu da indução anestésica para a realização da operação corretiva até o segundo dia de PO.

Os níveis plasmáticos de IL-10 iniciaram sua elevação imediatamente após a reperfusão miocárdica (abertura da pinça da aorta), atingiram um pico ao final do procedimento cirúrgico e mantiveram-se elevados até a quarta hora de PO. A partir de então os níveis plasmáticos sofreram um descenso, e os valores mensurados no primeiro e segundo dias de PO não foram estatisticamente diferentes daqueles observados no momento da indução da anestesia.

As concentrações plasmáticas de MIF apresentaram uma cinética diferente. Os níveis plasmáticos de MIF também iniciaram sua elevação no momento da reperfusão miocárdica e permaneceram elevados ao final da cirurgia de forma comparável aos níveis de IL-10. No entanto o descenso dos níveis de MIF foi mais precoce e os valores mensurados na quarta hora de PO e no primeiro dia de PO não foram estatisticamente diferentes daqueles avaliados no momento da indução anestésica. A medida da concentração plasmática de MIF realizada no segundo dia de PO detectou um segundo pico de elevação quando comparada aos valores basais.

Os níveis plasmáticos de IL-6 apresentaram-se significativamente elevados em relação aos níveis detectados no momento da indução da anestesia, a partir do término da operação, permanecendo elevados na quarta hora de PO e no primeiro dia de PO,

sofrendo uma queda a partir de então. Os valores mensurados no segundo dia de PO não apresentam diferença sob o ponto de vista estatístico daqueles mensurados no momento da indução anestésica.

A elevação das concentrações plasmáticas de citocinas tanto com perfil pró-inflamatório (MIF e IL-6) quanto com perfil anti-inflamatório (IL-10) relacionada a correção cirúrgica de cardiopatias congênitas em crianças com o uso de circulação extracorpórea foi demonstrada por vários outros autores, entre eles, Hovels-Gurich e outros (2002), Madhok e outros (2006), Merchant e outros (2008) e Pasnik e outros (2007). Entretanto, as cinéticas específicas de cada uma das citocinas cujas concentrações plasmáticas se modificaram no decorrer da intervenção cirúrgica e da recuperação pós-operatória em nosso estudo merecem algumas considerações quando comparadas com o conhecimento disponível na literatura.

Em nosso estudo, demonstramos que existe uma correlação temporal entre a reperfusão miocárdica que acontece, de forma geral, ao final da correção cirúrgica do defeito cardíaco, no momento da abertura da pinça da aorta, e a elevação da concentração plasmática de duas citocinas, uma com perfil pró-inflamatório (MIF) e outra com perfil anti-inflamatório (IL-10). Tal cinética descrita acima permite que se formule a hipótese de que existiria atividade anti-inflamatória que se inicia de forma concomitante à atividade pró-inflamatória. A presença de atividade anti-inflamatória precedendo a atividade pró-inflamatória, sob o ponto de vista da cinética das citocinas, foi demonstrada por Hovels-Gurich e outros (2002) em um estudo em que foram avaliadas crianças submetidas a correção de cardiopatias congênitas divididas em grupos caracterizados por sobrecarga de volume de ventrículo esquerdo ou por hipofluxo pulmonar e cianose. Foi demonstrado, em ambos os grupos, que a elevação das concentrações plasmáticas de IL-10 precedia a elevação de IL-6. Neste estudo o MIF não foi avaliado.

A hipótese de que a cirurgia cardíaca com CEC induz inicialmente uma resposta anti-inflamatória e que subsequentemente uma resposta inflamatória ao trauma cirúrgico modularia esta primeira resposta foi defendida por Tarnok e Schneider (2001) e Tarnok e outros (1999) e, corrobora a cinética de IL-6/IL-10 demonstrada em nosso estudo e no de Hovels-Gurich e outros (2002).

Entretanto, a avaliação dos efeitos do trauma cirúrgico e da exposição ao circuito da CEC nas atividades pró-inflamatórias ou anti-inflamatórias é tarefa bastante



complexa pois no período perioperatório o paciente está exposto a vários outros fatores, entre eles agentes anestésicos, corticosteroides, medicamentos antifibrinolíticos, hemoderivados, além do trauma cirúrgico e exposição às superfícies não recobertas por endotélio do circuito de CEC, todos eles com potencial para interferir na síntese e secreção de citocinas. Dessa forma, a concentração plasmática de determinada citocina provavelmente resulta de uma complexa interação de todos estes fatores e não somente da exposição do paciente ao circuito de CEC ou ao trauma cirúrgico.

Corroborando a hipótese aventada acima, Bocsi e outros (2011) e também Weis e outros (2009) demonstraram que a administração de corticosteroide antes do início da CEC suprime a secreção de IL-6 e promove a secreção de IL-10 tanto em adultos quanto em crianças. Em nosso estudo foi administrada metilprednisolona no momento da indução da anestesia. Na casuística de Hovels-Gurich e outros (2002) os pacientes também receberam corticosteroides durante a indução anestésica. É possível que a administração do corticosteroide possa ter influenciado na elevação precoce dos níveis de IL-10, precedendo a elevação dos níveis plasmáticos das citocinas com perfil pró-inflamatório em ambos os estudos. No entanto, Allen e outros (2006) demonstraram um aumento nos níveis plasmáticos de IL-10 imediatamente após a abertura da pinça da aorta em um grupo de crianças, com idade menor que dois anos, submetido a correção de cardiopatias congênitas com CEC e que não haviam recebido corticosteroide antes ou durante o procedimento cirúrgico.

Estes achados em conjunto sugerem que dentre os fatores com potencial para modificar a concentração plasmática de IL-10 nos pacientes de nosso estudo, o corticosteroide pode não ter desempenhado papel relevante.

Outro fator com potencial influência na síntese ou secreção de citocinas é o agente anestésico utilizado. Em nosso estudo todas as crianças receberam sevoflurano, fentanila, midazolam e pancurônio.

Kawamura e outros (2006) avaliando pacientes adultos submetidos a cirurgia cardíaca com CEC demonstraram que as concentrações plasmáticas de IL-6 após a reperfusão miocárdica eram significativamente menores no grupo que recebeu sevoflurano na anestesia. Também demonstraram neste grupo de pacientes que o sevoflurano não modificava as concentrações plasmáticas de IL-10. Neste estudo o MIF não foi avaliado.

Em um estudo recente, Xia e outros (2011) fizeram uma avaliação comparativa do efeito da administração de midazolam ou propofol, ambos agentes anestésicos hipnóticos, nas concentrações plasmáticas de IL-6 em crianças com diagnóstico de cardiopatia congênita cianosante submetidas a cirurgia cardíaca corretiva com CEC. Foi demonstrado que quando comparado ao propofol, o midazolam estava associado a maior elevação dos níveis plasmáticos de IL-6 ao final da CEC.

Murphy e outros (2007), avaliando pacientes adultos submetidos a cirurgia cardíaca com CEC, investigaram os efeitos da fentanila comparados aos da morfina nas concentrações plasmáticas de IL-6 após três e 24 horas do final da CEC. Demonstraram que a fentanila determina uma maior elevação dos níveis de IL-6 quando comparada com a morfina.

Considerando-se os estudos mencionados acima que tratam do impacto dos agentes anestésicos utilizados durante a cirurgia cardíaca nas concentrações plasmáticas de citocinas é possível concluir que existem diferenças significativas nos efeitos de cada agente. Como os estudos são comparativos, fica demonstrado o efeito isolado do agente anestésico pois todos os outros fatores com potencial para interferência nas concentrações plasmáticas das citocinas são comparáveis nos dois grupos de cada estudo. No entanto cada estudo avalia uma condição muito específica pois tanto a metodologia quanto a casuística de cada um difere em algum ponto do outro. Dessa forma fica difícil extrapolar os achados, no que se refere ao efeito de agentes anestésicos nas concentrações plasmáticas de IL-6 e IL-10 para outros estudos, como o nosso.

A utilização de agentes antifibrinolíticos é uma prática adotada na maioria dos centros que realizam cirurgia cardíaca para correção de cardiopatias congênitas. Dentre os agentes mais utilizados atualmente estão os análogos da lisina, o ácido tranexânico e ácido épsilon-aminocapróico. Devido ao fato da existência de evidência suficiente na literatura de que o uso de agentes antifibrinolíticos, particularmente o ácido tranexânico (PASQUALI et al., 2012), está associado a menor volume de sangramento no PO e também menor morbidade e mortalidade, praticamente não existem estudos clínicos que avaliem a cinética das citocinas em pacientes que receberam antifibrinolíticos e que possuam um grupo controle sem o uso destas drogas. Hsia e outros (2010), em um estudo avaliando um grupo heterogêneo de crianças com hiperfluxo e hipofluxo pulmonar demonstraram que a elevação dos níveis plasmáticos de IL-10 pós CEC eram

três vezes maiores no grupo que havia sido tratado com o ácido tranexânico comparativamente ao grupo tratado com a aprotinina. O mesmo estudo também avaliou as concentrações plasmáticas de IL-6 e demonstrou que embora tais concentrações se elevem de forma significativa pós CEC, não houve diferença significativa entre os grupos tratados com ácido tranexânico e aprotinina. Em outro estudo, Jimenez e outros (2007) avaliaram a influência da administração de ácido tranexânico a um grupo de pacientes adultos submetidos a cirurgia de revascularização do miocárdio com CEC, na resposta inflamatória e no volume de sangramento no PO. Constatou que o uso do ácido tranexânico não alterava de forma significativa as concentrações plasmáticas de IL-6 mensuradas após seis e 24 horas do final da CEC, quando comparado com placebo. Dessa forma, embora se possa sugerir que o ácido tranexânico não esteja relacionado a modificações nas concentrações plasmáticas de IL-6 e que poderia estar associado a elevações nas concentrações de IL-10, não há evidências suficientes na literatura para fazer tal afirmação. Assim, não temos como excluir a possibilidade de que a administração de ácido tranexânico na dose de 20 mg/Kg de peso utilizada em todos os pacientes possa ter influenciado a elevação precoce de IL-10 encontrada em nosso estudo.

A transfusão de hemoderivados pode influenciar a concentração plasmática das citocinas de duas maneiras distintas. A primeira seria a indução ou inibição da secreção de citocinas pelos componentes celulares ou moléculas presentes no hemoderivado. A segunda seria pela presença de determinadas citocinas como o TNF-alfa e a IL-6 no hemocomponente estocado, conforme demonstrado por Kristiansson e outros (1996).

Em nosso estudo, 12 das 19 crianças estudadas receberam transfusão de concentrado de hemácias, enquanto sete não receberam. Quando comparamos o grupo de crianças não transfundidas com o grupo de crianças transfundidas considerando as cinéticas de IL-6 e IL-10 constatamos que só houve diferença estatisticamente significativa nas concentrações de ambas as citocinas entre os dois grupos no momento T1, o qual expressa as concentrações de citocinas avaliadas cinco minutos após o início da CEC. Dessa forma, de acordo com nossos resultados, imediatamente após o início da CEC, as concentrações de IL-6 e IL-10 foram significativamente maiores no grupo de crianças não transfundidas do que naquelas transfundidas. Em todas as mensurações realizadas subsequentemente, após a abertura da pinça da aorta (T2), ao final da cirurgia (T3) e no período de PO (T4, T5 e T6), as concentrações de IL-6 foram

semelhantes nos dois grupos. O mesmo comportamento foi observado em relação a IL-10. Admitindo-se que em todas as crianças transfundidas o concentrado de hemácias foi acrescentado no “priming” da CEC, a transfusão ocorria sempre no início da CEC, quando o “priming” se misturava com a volemia da criança. Considerando que em todas as outras mensurações de IL-6 e IL-10 realizadas após o início da CEC não se detectaram diferenças entre os grupos de crianças transfundidas e não transfundidas quanto as concentrações de IL-6 e IL-10 parece que a transfusão não impactou de forma significativa na cinética destas citocinas em nosso estudo. Esses achados contrastam com estudos descritos na literatura, que demonstraram elevações de IL-6 (FRANSEN et al., 1999; SENAY et al., 2009) e de IL-10 (LEAL-NOVAL et al., 2010) relacionadas a transfusão.

Fransen e outros (1999), em um estudo que avaliou pacientes adultos submetidos a cirurgia cardíaca com CEC, demonstraram que a transfusão de concentrado de hemácias está associada a uma elevação significativa das concentrações plasmáticas de IL-6 mensuradas após 30 minutos, quatro horas e 18 horas após a reperfusão miocárdica. No mesmo estudo não foram detectadas concentrações significativas de IL-6 nas bolsas de concentrados de hemácias utilizadas para transfusão. As concentrações de IL-10 e MIF não foram estudadas. Em outro estudo que também avaliou pacientes adultos submetidos a cirurgia cardíaca com CEC, Senay e outros (2009) também demonstraram elevação significativa dos níveis plasmáticos de IL-6 após a CEC naqueles pacientes que receberam hemotransfusão quando comparados àqueles que não foram transfundidos. As concentrações de IL-10 e MIF não foram avaliadas.

Leal-Noval e outros (2010) desenharam um estudo com o objetivo de avaliar a influência da transfusão de concentrado de hemácias na proporção de linfócitos CD4+ que produziam TNF-alfa ou IL-10. Ele demonstraram que a hemotransfusão levava a um aumento significativo no número de linfócitos CD4+ que produziam IL-10 em proporção aos linfócitos produtores de TNF-alfa, levando a um consequente aumento na concentração plasmática de IL-10 nestes pacientes.

A comparação entre os grupos de crianças transfundidas e não transfundidas em nosso estudo demonstrou que a transfusão de concentrado de hemácias parece não impactar na cinética do MIF no grupo de pacientes estudados. Ao que nos parece, não

existem na literatura estudos comparáveis que pudessem suportar ou se contrapor aos nossos achados.

Em nosso estudo, a elevação das concentrações plasmáticas de MIF se iniciou no momento da reperfusão miocárdica, sugerindo um possível papel do estresse oxidativo relacionado à injúria de reperfusão e sua secreção. Tal papel já foi sugerido previamente na literatura. Fukuzawa e outros (2002), em um estudo experimental em ratos, demonstraram a secreção de MIF por células musculares ventriculares induzida por estresse oxidativo. Em outro estudo também realizado em ratos, Yu e outros (2003) demonstraram a secreção de MIF por células musculares cardíacas e macrófagos infiltrados, relacionada a injúria isquêmica aguda.

Além das evidências experimentais relacionadas acima, também existem estudos clínicos que demonstram uma correlação temporal entre a elevação das concentrações plasmáticas de MIF e a reperfusão miocárdica. Mendonça-Filho e outros (2006), avaliando um grupo de pacientes adultos submetidos a cirurgia cardíaca com CEC, demonstraram o pico de elevação dos níveis plasmáticos de MIF ao final da CEC. Neste estudo não foram avaliados os níveis de MIF imediatamente após a reperfusão miocárdica, e a dosagem ao final da CEC é a mensuração mais próxima temporalmente deste evento. Merchant e outros (2008), avaliando um grupo de 20 crianças com diagnóstico de cardiopatias congênitas com hiperfluxo pulmonar submetidas a cirurgia corretiva, demonstraram a elevação máxima das concentrações plasmáticas de MIF na mensuração realizada duas horas após a cirurgia. Tal mensuração é a mais próxima temporalmente com o momento da reperfusão miocárdica haja vista a não coleta de amostras para mensuração no momento da reperfusão. Em ambos os estudos clínicos descritos acima foi detectada uma elevação precoce das concentrações de MIF seguindo-se à reperfusão miocárdica com um pico ao final da CEC ou nas primeiras duas horas que se seguem, e a seguir um decurso nas concentrações, as quais retornam aos valores basais cerca de doze horas após o final da cirurgia. Interessantemente, em nosso estudo encontramos uma cinética de MIF muito similar a estes achados, nas primeiras doze horas. Entretanto, detectamos um segundo pico de elevação no segundo dia de PO que não havia sido descrito anteriormente.

A elevação das concentrações plasmáticas de MIF no segundo dia de PO em nosso estudo poderia ser explicada por alguma particularidade relacionada à casuística ou a metodologia por nós utilizada. Comparando nosso estudo com aqueles de Mendonça-

Filho e outros (2006) e de Merchant e outros (2008) podemos constatar que somente no nosso foi administrada a metilprednisolona, um corticosteroide sintético cuja meia-vida é de 36 horas, no momento da indução anestésica. Considerando que Leng e outros (2009) demonstraram a expressão de MIF por células T induzida por glicocorticoides, seria possível aventar a hipótese de que, em nosso estudo, a metilprednisolona administrada poderia ter contribuído para a elevação tardia nos níveis plasmáticos de MIF. Entretanto, Mendonça-Filho e outros (2004), avaliando um grupo de pacientes adultos submetidos a cirurgia de revascularização do miocárdio, demonstraram que a administração de metilprednisolona não interfere nas concentrações plasmáticas de MIF nestes pacientes. Dessa forma, considerando as informações disponíveis na literatura na atualidade não é possível excluir a possibilidade de um efeito diferente da metilprednisolona na faixa etária pediátrica com cardiopatias congênitas daquele demonstrado por Mendonça-Filho e outros (2004) em adultos ou até mesmo a possibilidade de outras particularidades de nosso estudo como os protocolo de anestesia ou de manuseio pós-operatório na UTI, terem interferido nas concentrações plasmáticas de MIF no segundo dia de PO.

Em nosso estudo não identificamos modificações significativas nas concentrações plasmáticas de IL-4, IL-2, IL-17, TNF-alfa e IFN-gama.

Misoph e Babin-Ebell (1997), estudando pacientes adultos submetidos a cirurgia de revascularização do miocárdio, avaliaram as variações interindividuais nas modificações das concentrações plasmáticas das citocinas IFN-gama, TNF-alfa, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10 e demonstraram que, especialmente durante e após a CEC, há uma ampla variabilidade interindividual nos níveis das citocinas. As concentrações de IL-6 e IL-10 foram as que menos apresentaram variações interindividuais, sugerindo que estas duas poderiam ser marcadores mais confiáveis.

Em um estudo em que foram avaliados paciente adultos submetidos a cirurgia de revascularização do miocárdio, Nathan e outros (2000) demonstraram que as concentrações plasmáticas de IL-4 não se modificaram em várias amostras avaliadas desde a indução anestésica até 24 horas de PO. Tal achado havia sido descrito previamente por Kawamura, Wakusawa e Inada (1997). Entretanto, Misoph e Babin-Ebell (1997) demonstraram elevação dos níveis de IL-4 durante e após a CEC. Os achados descritos acima nos permitem formular duas hipóteses. A primeira, em concordância com os achados de Misoph e Babin-Ebell, seria a de que os níveis de IL-4

poderiam se elevar durante o período perioperatório e pós-operatório de cirurgias cardíacas com CEC, contribuindo para a atenuação da inflamação, mas que devido a ampla variabilidade na resposta individual tal efeito poderia não ser detectado em algumas casuísticas relativamente pequenas, como as citadas anteriormente. A outra hipótese seria de que a IL-4 não desempenharia papel relevante em pacientes submetidos a cirurgias cardíacas com CEC, embora tal papel tenha sido demonstrado em outros processos inflamatórios agudos como a sepse clínica (VAN DE POLL et al., 1997), o que permitiria a sugestão adicional de que os mediadores anti-inflamatórios poderiam ser diferentes de acordo com a etiologia do processo inflamatório.

Alguns autores, entre eles Bocsi e outros (2011) e Franke e outros (2002, 2006) demonstraram uma diminuição ou não elevação dos níveis plasmáticos de IL-2 e IFN- $\gamma$  nos período perioperatório e pós-operatório em crianças submetidas a correção de cardiopatias congênitas com CEC. Franke e outros (2002, 2006) demonstraram uma supressão da síntese de IFN- $\gamma$  por monócitos, macrófagos e linfócitos, e de IL-2 por monócitos de pacientes submetidos a cirurgia com CEC, mas sem modificação nas concentrações plasmáticas destas citocinas, em concordância com nossos achados. A supressão da síntese de IFN- $\gamma$  e IL-2 poderia ser, pelo menos parcialmente, explicada pela elevação precoce e significativa dos níveis de IL-10 encontrada em nosso estudo e nos citados acima. A IL-10 é um conhecido inibidor da secreção de IL-12 (SABAT et al., 2010) que por sua vez tem papel fundamental na produção de IFN- $\gamma$  e IL-2.

A participação do TNF- $\alpha$  na reação inflamatória em pacientes submetidos a cirurgia cardíaca com CEC tem sido motivo de controvérsia. Apesar da demonstração de que o miocárdio é local de síntese e secreção de TNF- $\alpha$  nestes pacientes (WAN et al., 1996), a maioria dos autores não tem conseguido demonstrar elevação nas concentrações plasmáticas desta citocina no contexto da cirurgia cardíaca com CEC. Assim, Madhok e outros (2006) e também Allan e outros (2010) avaliando crianças submetidas a cirurgia cardíaca com CEC para correção de cardiopatias congênitas não detectaram modificações significativas nas concentrações plasmáticas de TNF- $\alpha$  no período perioperatório e pós-operatório. Nossos achados estão em concordância com os desses dois autores. No entanto, existem casuísticas como a publicada por Franke e outros (2002), em que se demonstrou uma elevação dos níveis de TNF- $\alpha$  no PO de cirurgia de revascularização do miocárdio em adultos. Uma das possíveis explicações para esta divergência de achados poderia ser a variabilidade individual na produção e

secreção do TNF- $\alpha$  nestes pacientes, já relatada por Misoph e Babin-Ebell (1997) anteriormente e atribuída, pelo menos em parte, ao polimorfismo gênico por Boehm e outros (2011).

O possível envolvimento da IL-17 na reação inflamatória em crianças submetidas a cirurgia cardíaca com CEC foi aventado devido as funções biológicas atribuídas a esta citocina. As principais funções conhecidas da IL-17 são a indução da secreção de outras citocinas pró-inflamatórias e também quimiocinas por várias células alvo que por sua vez promovem inflamação e recrutamento de neutrófilos (GAFFEN, 2008). Assim a IL-17 tem papel relevante em vários tipos de reação inflamatória aguda, como a resposta a infecções bacterianas (REYNOLDS; ANGKASEKWINAI; DONG, 2010). Considerando-se o perfil biológico da IL-17 e as características já conhecidas da reação inflamatória em crianças submetidas a cirurgia cardíaca com CEC formulamos a hipótese de que a IL-17 poderia estar envolvida em tal reação. No entanto, em nosso estudo, não conseguimos demonstrar modificações significativas nas concentrações plasmáticas desta citocina mensuradas desde a indução anestésica até o segundo dia de PO. Ao que nos parece, não existe na literatura nenhum estudo que tenha avaliado a cinética da IL-17 em pacientes adultos ou pediátricos submetidos a cirurgia cardíaca com CEC. Apesar de nossos achados, acreditamos que não seja possível excluir o papel da IL-17 como mediador da reação inflamatória nestes pacientes, devido ao pequeno número de pacientes estudados.

## **6.2 Correlação das concentrações plasmáticas de IL-6, IL-10 e MIF com parâmetros clínicos pré-estabelecidos e com variáveis perioperatórias**

Neste estudo, nós avaliamos a correlação das concentrações plasmáticas de IL-6, IL-10 e MIF com seis parâmetro clínicos estabelecidos previamente, sendo eles o escore inotrópico, escore de TISS cumulativo nos primeiros três dias, o tempo de permanência na UTI, o índice de oxigenação, o tempo de ventilação mecânica e o volume de sangramento no PO. Todos os parâmetros listados acima são relacionados a morbidade e estão sujeitos a influência de uma eventual resposta inflamatória sistêmica.

O escore inotrópico reflete a necessidade de suporte inotrópico no PO, que por sua vez está associada a depressão da contratilidade miocárdica. Dessa forma a intensidade da resposta inflamatória no miocárdio seria um dos fatores que



determinaria a intensidade da depressão contrátil e consequente necessidade de suporte inotrópico. Tal correlação já foi demonstrada em outras entidades clínicas que cursam com reação inflamatória sistêmica como a sepse (HUNTER; DODDI, 2010).

O escore de TISS cumulativo nos primeiros três dias expressa a quantidade e a complexidade das intervenções terapêuticas necessárias no cuidado ao paciente nos primeiros três dias de PO. Dessa forma, a incidência de complicações no PO estará associada a uma maior necessidade de intervenção e consequentemente a um maior escore de TISS. O tempo de permanência na UTI, assim como o escore de TISS está diretamente relacionado a complexidade da evolução no PO. Ambos os parâmetros clínicos estão diretamente associados a morbidade no PO e podem dessa forma ajudar na elucidação do papel exercido pela resposta inflamatória sistêmica na morbidade apresentada pelos pacientes no PO.

O índice de oxigenação é uma medida da capacidade de troca gasosa do pulmão em determinado momento. Quaisquer fatores que comprometam a fisiologia da interface alvéolo-capilar levarão a uma diminuição no índice de oxigenação. O tempo de ventilação mecânica é um parâmetro mais amplo que reflete não somente o capacidade de trocas gasosas como também toda a dinâmica ventilatória. Neste estudo, nós avaliamos a correlação de ambos os parâmetros com as concentrações plasmáticas de IL-6, IL-10 e MIF com o objetivo de identificar uma possível associação da resposta inflamatória identificada no PO por meio de seus mediadores e um comprometimento da capacidade de troca gasosa pulmonar e da dinâmica ventilatória.

O volume de sangramento no PO está associado a uma série de fatores tais como a técnica cirúrgica empregada, a exposição do paciente ao trauma cirúrgico e ao circuito de CEC, transfusão de hemoderivados, e suas consequências no sistema de coagulação e fibrinólise do paciente.

A IL-6 é uma citocina pleiotrópica com uma ampla gama de funções biológicas entre elas a regulação imune e a inflamação (KISHIMOTO, 2010). No contexto da cirurgia cardíaca com CEC, a IL-6 foi alvo de investigação em vários estudos, e, na maioria deles, a elevação de suas concentrações plasmáticas foi correlacionada a variáveis que traduzem morbidade nos períodos perioperatório e pós-operatório. Pasnik e outros (2007), em um estudo em que foram avaliadas crianças submetidas a correção de cardiopatias congênitas com CEC, demonstraram uma correlação das concentrações plasmáticas de

IL-6 quatro horas após o final da cirurgia com o tempo de duração da CEC, um conhecido fator preditor independente de morbidade pós-operatória (SOARES et al., 2010).

Holmes e outros (2002) demonstraram, em pacientes adultos submetidos a cirurgia cardíaca com CEC, uma maior incidência de sangramento pós-operatório e um maior tempo de ventilação mecânica no PO naqueles pacientes que apresentavam uma concentração plasmática de IL-6 mensurada na quarta hora de PO maior que a média encontrada nos pacientes avaliados. Hovels-Guric e outros (2002) avaliando dois grupos de crianças submetidas a correção cirúrgica de cardiopatias congênitas com CEC, sendo um grupo de cardiopatias caracterizadas por hipoxemia e outro por cardiopatias com hiperfluxo pulmonar demonstraram em ambos, uma correlação positiva entre as concentrações plasmáticas de IL-6 e a necessidade de suporte inotrópico e uma correlação negativa entre os níveis de IL-6 e o índice de oxigenação. Estes achados sugerem um comprometimento das funções cardíaca e pulmonar relacionado a IL-6. Madhok e outros (2006), estudando um grupo heterogêneo de crianças com diagnóstico de cardiopatias com hiperfluxo e hipofluxo pulmonar submetidas a cirurgia corretiva também estabeleceram uma correlação entre a IL-6 e morbidade no PO. Estes autores demonstraram uma correlação positiva entre as concentrações de pico de IL-6 e o escore de TISS cumulativo nos três primeiros dias. A maior casuística referente a avaliação da correlação das concentrações plasmáticas de citocinas com a morbidade no PO em crianças submetidas a cirurgia cardíaca com CEC foi publicada por Allan e outros (2010). Neste estudo foram avaliados 93 pacientes, em sua maioria neonatos e lactentes com uma miscelânea de cardiopatias com hiperfluxo e hipofluxo pulmonar submetidos a cirurgia corretiva. Estes autores demonstraram uma correlação positiva entre os níveis plasmáticos de IL-6 mensurados 24 horas após a cirurgia e o tempo de ventilação mecânica e o tempo de permanência na UTI.

Em nosso estudo, em concordância com achados descritos previamente na literatura (HOVELS-GURICH et al., 2002), identificamos uma correlação positiva entre as concentrações plasmáticas de IL-6 mensuradas ao final da cirurgia e a necessidade de suporte inotrópico mensurada pelo escore inotrópico. Tal correlação poderia ser explicada pelo fato de a IL-6 atuar como um agente depressor do miocárdio por meio da indução da óxido nítrico sintetase no miocárdio. Tal ação foi demonstrada em modelos experimentais em ratos (SUGISHITA et al., 1999).

No presente estudo não conseguimos identificar nenhuma correlação entre a IL-6 e outras variáveis relacionadas a morbidade pós-operatória como o tempo de permanência na UTI, tempo de ventilação mecânica, volume de sangramento no PO, tempo de CEC e escore de TISS. Quando comparamos as características dos pacientes de nosso estudo com aquelas de pacientes incluídos em outros estudos publicados, nos quais se avaliam a correlação dos níveis de IL-6 com variáveis relacionadas a morbidade encontramos algumas diferenças que poderiam, pelo menos em parte, explicar a divergência entre os resultados encontrados. Em nosso estudo a idade média dos pacientes foi de 5,7 anos, enquanto nos estudos existentes na literatura (ALLAN et al., 2010; HOVELS-GURICH et al., 2002; MADHOK et al., 2006) a idade média variou entre 37 dias e 15 meses. Dessa forma a proporção de neonatos e lactentes em nosso estudo foi comparativamente menor em relação as casuísticas existentes na literatura. Outra característica de nossos pacientes que se contrapõe a dos estudos descritos na literatura é a complexidade dos defeitos cardíacos tratados. Em nosso estudo todos os pacientes se enquadraram nas categorias 1, 2 e 3 do método RACHS-1 caracterizando uma casuística de baixa a média complexidade. Nos estudos publicados por Allan e outros (2010) e Madhok e outros (2006) foram incluídos pacientes comparáveis aos de nosso estudo no que se refere a complexidade, mas também uma porcentagem de pacientes nas categorias 4 e 5, consideravelmente mais complexos que os nossos. A menor complexidade dos pacientes de nosso estudo poderia ser uma das explicações para a maior faixa etária quando comparada a dos estudos da literatura conforme discutido previamente.

A menor complexidade e maior faixa etária de nossos pacientes provavelmente contribuíram para que houvesse outras diferenças entre nossa casuística e aquelas descritas na literatura. Assim os tempos médios de CEC (42 minutos) e de pinçamento aórtico (32 minutos) em nosso estudo foram aparentemente menores do que aqueles relatados nos estudos de Allan e outros (2010), Hovels-Gurich e outros (2002), Madhok e outros (2006) e Pasnik e outros (2007). É possível que a associação dos fatores descritos anteriormente possa ter contribuído para uma evolução pós-operatória com baixa morbidade em nossos pacientes, caracterizada por tempos de ventilação mecânica e de permanência na UTI relativamente curtos e necessidade de suporte inotrópico e escore de TISS cumulativo, aparentemente baixos quando comparados aos descritos em outros estudos (ALLAN et al., 2010; HOVELS-GURICH et al., 2002; MADHOK et al., 2006).

No entanto, nos parece bastante intrigante o fato de que apesar de nossos pacientes se enquadrarem em categorias de baixo risco, de correção cirúrgica relativamente simples, eles apresentaram elevações significativas nas concentrações plasmáticas de IL-6, aparentemente comparáveis às aquelas observadas em estudos descritos na literatura (ALLAN et al., 2010; HOVELS-GURICH et al., 2002; MADHOK et al., 2006), nos quais se identificaram correlações entre os níveis plasmáticos de IL-6 e variáveis relacionadas a morbidade no PO. Dentre as possíveis explicações para essa incongruência poderiam figurar diferenças na metodologia adotada por cada estudo abrangendo desde protocolos de manuseio do paciente durante e após a cirurgia até o método utilizado na mensuração das concentrações plasmáticas das citocinas.

A correlação das concentrações plasmáticas de IL-10 com a morbidade no PO é tema bastante controverso na literatura. Hovels-Gurich e outros (2002) demonstraram uma correlação inversa entre os níveis plasmáticos de IL-10 após a administração da protamina e a dosagem de adrenalina administrada no momento da admissão na UTI, em um grupo heterogêneo de 20 crianças com diagnóstico de cardiopatias com hiperfluxo e hipofluxo pulmonar submetidas a cirurgia corretiva com CEC. Um outro estudo que estabeleceu uma correlação entre a IL-10 e a morbidade no PO foi realizado por Bocsi e outros (2011). Neste estudo, que avaliou crianças submetidas a correção de cardiopatias congênitas com CEC, foi identificada uma correlação positiva entre as concentrações plasmáticas de IL-10 ao final da cirurgia e a incidência de edemas, derrame pleural e ascite no PO. Jouan e outros (2012), avaliando pacientes adultos submetidos a cirurgia de revascularização do miocárdio, identificou uma correlação positiva entre os desfechos clínicos definidos por óbito, infarto agudo do miocárdio, síndrome de baixo débito cardíaco, sepse e insuficiência renal e as concentrações plasmáticas de IL-10 mensuradas 24 horas após a cirurgia.

Allen e outros (2006) demonstraram uma correlação positiva entre as concentrações plasmáticas de IL-10 e uma supressão na produção de citocinas (IL-6, IL-8, antagonista de receptor de IL-1, TNF- $\alpha$  e a própria IL-10) em um grupo de 36 crianças menores de 2 anos no PO de cirurgia cardíaca com CEC, desafiadas com lipopolissacarídeo de *Neisseria meningitidis*. Tal supressão foi caracterizada pelos autores como um estado de paralisia imunológica, o qual impediria o paciente de responder de forma apropriada de modo a prevenir ou limitar infecções hospitalares. No mesmo estudo foi demonstrada uma correlação positiva entre a supressão na produção

de IL-6 e IL-10 em resposta ao desafio com lipopolissacarídeo e o tempo de permanência na UTI.

Por outro lado, existem estudos na literatura, avaliando tanto crianças (ALLAN et al., 2010; MADHOK et al., 2006) quanto adultos (MENDONÇA-FILHO et al., 2006) que foram desenhados com o objetivo de identificar possíveis correlações entre as citocinas e a morbidade no PO, que não descrevem qualquer associação entre os níveis plasmáticos de IL-10 e variáveis relacionadas a morbidade no PO.

Em nosso estudo também não conseguimos demonstrar correlação entre as concentrações plasmáticas de IL-10 ao final da cirurgia e as oito variáveis estudadas relacionadas a morbidade.

Três de nossos pacientes apresentaram diagnóstico de infecção no período de seguimento no PO, sendo duas infecções de ferida operatória superficiais e uma infecção do trato urinário. Devido ao pequeno número de casos não foi possível avaliar uma possível correlação dos níveis de IL-10 com a incidência de infecção nestes pacientes.

Considerando os achados de literatura descritos acima podemos concluir que a associação entre morbidade no PO e IL-10 ainda é um assunto completamente indefinido, existindo estudos que não descrevem qualquer correlação, estudos que descrevem correlação negativa ou até mesmo correlação positiva. Acreditamos que os diferentes achados nos vários estudos, incluindo o nosso, considerando a possível correlação de IL-10 com a morbidade no PO possa ser explicado principalmente por fatores metodológicos. Cada um dos estudos descritos foi desenvolvido com uma metodologia própria considerando a determinação da casuística, técnica anestésica, de condução da CEC, técnica cirúrgica, protocolos de manuseio na UTI. Dessa forma, as casuísticas variam de acordo com a idade, raça, diagnóstico de cardiopatia, tipo de tratamento clínico utilizado até a realização da cirurgia e estado de compensação clínica no momento da cirurgia, assim como todos os outros fatores descritos acima apresentam variações significativas de estudo para estudo.

Em nosso estudo não foi possível demonstrar a presença de correlação entre as concentrações plasmáticas de MIF e as seis variáveis clínicas relacionadas a morbidade e os dois parâmetros perioperatórios previamente definidos.

A correlação positiva entre os tempos de CEC e de pinçamento aórtico com os níveis plasmáticos de MIF foram demonstrados em estudos realizados em adultos (MENDONÇA-FILHO et al., 2006; STOPPE et al., 2012) e crianças (MERCHANT et al.,

2008). Apesar do MIF ser secretado por vários tipos celulares como os monócitos-macrófagos, neutrófilos e células musculares cardíacas (CALANDRA; ROGER, 2003), esta correlação dos níveis de MIF com os tempos de CEC e de pinçamento aórtico sugere a possibilidade de que a secreção de MIF pelas células musculares cardíacas possa desempenhar papel relevante. Conforme discutido anteriormente, já foi demonstrado em modelos experimentais, a secreção de MIF por células musculares cardíacas desencadeada por estresse oxidativo (FUKUZAWA et al., 2002) e também na injúria isquêmica aguda (YU et al., 2003). Durante o período de pinçamento aórtico o miocárdio passa por repetidos ciclos de isquemia e reperfusão, os quais necessariamente levam a algum grau de estresse oxidativo e injúria isquêmica. A técnica cardioplégica utilizada em nosso estudo e na maioria dos estudos descritos na literatura, a solução cardioplégica sanguínea fria intermitente, consiste na infusão coronariana de solução sanguínea hipotérmica por curtos períodos, de cerca de dois a três minutos, intercalados com períodos de cerca de 15 a 20 minutos sem nenhuma perfusão coronariana. Quanto maior o tempo de pinçamento aórtico, e consequentemente o tempo de CEC, maior será o número de ciclos de isquemia e reperfusão a que o miocárdio será submetido.

Em nosso estudo não identificamos nenhuma correlação entre os tempos de CEC e de pinçamento aórtico com as concentrações plasmáticas de MIF. Estes achados, em dissonância com os estudos previamente descritos na literatura (MENDONÇA-FILHO et al., 2006; MERCHANT et al., 2008; STOPPE et al., 2012) talvez pudessem ser explicados em parte por algumas características de nossa casuística. Em nosso estudo todas as crianças apresentavam diagnóstico de cardiopatias consideradas de baixa e média complexidade e consequente baixo risco para mortalidade hospitalar relacionada à correção, se enquadrando nas categorias 1, 2 e 3 do método RACHS proposto por Jenkins e outros (2002). A baixa complexidade dos casos propiciou tempos de CEC e de pinçamento aórticos relativamente curtos. Considerando que possa existir uma correlação entre os ciclos de isquemia e reperfusão com a produção de MIF pelas células musculares cardíacas, é possível, que em nosso estudo, o pequeno número destes ciclos possa ter contribuído para a dificuldade em se estabelecer a correlação entre os tempos de CEC e pinçamento aórtico e os níveis de MIF. No entanto, permanece o fato intrigante de que demonstramos elevações significativas nas concentrações plasmáticas de MIF mesmo com tempos curtos de CEC e de pinçamento aórtico. Tal achado poderia sugerir que a produção de MIF também estaria relacionada a outros estímulos aos quais o

paciente é submetido no período perioperatório tais como o próprio trauma tecidual, agentes anestésicos e antifibrinolíticos e não somente a CEC e o pinçamento aórtico.

Em nosso estudo não conseguimos demonstrar correlação entre as concentrações plasmáticas de MIF e os parâmetros clínicos relacionados a morbidade no PO. Tal correlação é motivo de considerável controvérsia nos estudos descritos na literatura. Merchant e outros (2008), avaliando um grupo de 20 crianças com diagnóstico de cardiopatia congênita com sobrecarga de volume de ventrículo esquerdo e idade inferior a quatro anos submetidas a cirurgia corretiva, demonstraram uma clara correlação entre o MIF e a morbidade no PO. Estes autores demonstraram uma correlação entre as concentrações plasmáticas de MIF mensuradas duas horas após o final da cirurgia e o tempo de ventilação mecânica, o tempo de permanência na UTI e o escore inotrópico no segundo dia de PO. Não foi detectada correlação dos níveis de MIF com o escore de TISS no segundo dia de PO nem com o escore inotrópico no primeiro dia de PO.

Em outro estudo, Mendonça-Filho e outros (2006), avaliando 93 pacientes adultos submetidos a cirurgia cardíaca com CEC, observaram uma associação direta entre as concentrações plasmáticas de MIF mensuradas três horas após o final da cirurgia com o tempo de ventilação mecânica no PO e com a necessidade de vasopressores nas primeiras 24 horas de PO; também observou uma correlação inversa dos níveis de MIF com o índice de oxigenação. Por outro lado, Stoppe e outros (2012) descreveram achados completamente antagônicos aos de Mendonça-Filho e outros (2006) e os de Merchant e outros (2008). Stoppe e outros (2012) avaliaram um grupo de 52 pacientes adultos submetidos a cirurgia cardíaca com CEC e encontraram uma correlação negativa entre os níveis de MIF e a morbidade no PO. Estes autores descreveram uma correlação inversa entre as concentrações plasmáticas de MIF ao final da cirurgia com o índice de oxigenação e com os escores de SOFA ("Sequential Organ Failure Assessment") no terceiro dia de PO e de SAPS II ("Simplified Acute Physiology Score II") no segundo e terceiro dias de PO. Ambos os escores são utilizados para avaliação da morbidade. Também observaram uma correlação inversa entre os níveis de MIF mensurados quatro horas após o final da cirurgia com o índice de oxigenação no primeiro dia de PO e com o escore de SOFA no segundo e terceiro dias de PO.

É difícil determinar uma explicação clara para resultados tão divergentes no que se refere a correlação de MIF com morbidade no PO. Quando consideramos alguns

trabalhos experimentais que avaliaram mecanismos moleculares relacionados ao MIF é possível perceber que esta citocina tem uma ampla gama de ações. Vários estudos experimentais, revisados por Calandra e Roger (2003) atribuem ao MIF uma plethora de ações pro-inflamatórias. Assim, a ligação do MIF ao receptor CD74 ("cluster of differentiation 74") resulta em fosforilação das proteínas ERK ("extracellular signal-regulated kinases") com consequente promoção do crescimento celular. O MIF também promove "up-regulation" na expressão dos receptores TLR4 ("toll-like receptor 4") pelos macrófagos. Além do mais o MIF antagoniza os efeitos imunossupressores exercidos pelos corticosteroides nos níveis transcricional e pós transcricional. Gao e outros (2011), também descreveram uma exacerbação do dano ao miocárdio isquêmico atribuída ao MIF no processo de isquemia e reperfusão. Em contraste, foi descrito por outros autores (KOGA et al., 2011; MILLER et al., 2008; QI et al., 2009) uma atividade protetora exercida pela MIF sobre as células musculares cardíacas no processo de isquemia e reperfusão por meio da atenuação do estresse oxidativo devido a sua atividade intrínseca tiol-proteína oxido-redutase e também pela ativação das cinases AMPK ("5' adenosine monophosphate-activated protein kinase") e assim como pela inibição da apoptose das células musculares cardíacas mediada pelas cinases JNK ("c-Jun N-terminal kinases").

Apesar da existência de considerável evidência experimental acerca das funções do MIF, é possível concluir que a extrapolação direta destes resultados para uma situação clínica real, como as casuísticas em que se avaliam a resposta inflamatória associada a cirurgia cardíaca com CEC é tarefa bastante complicada. Nos estudos clínicos, como o nosso e também naqueles descritos na literatura, uma ampla gama de fatores, tais como características da população estudada, protocolos de manuseio da CEC, da anestesia e de cuidados na UTI, podem interferir nessa já complexa produção e secreção de mediadores relacionados a resposta inflamatória. Tais fatores poderiam explicar, pelo menos parcialmente, a incongruência de resultados apresentada pelo nosso estudo e aqueles descritos na literatura.

Considerando o que foi discutido anteriormente acerca dos resultados de nosso estudo e também das informações disponíveis na literatura considerando a correlação das concentrações plasmáticas das citocinas com a morbidade no PO é possível sugerir que o balanço da complexa interação entre as citocinas com perfis pró e anti-inflamatório seja apenas um dentre os fatores responsáveis pela determinação da



morbidade no PO. Algumas características do paciente tais como a idade, diagnóstico, condição clínica, presença de outras doenças associadas podem ter uma influência direta na morbidade, independentemente da reação inflamatória desencadeada. Da mesma forma a técnica cirúrgica, a técnica de condução da CEC, a técnica anestésica e o protocolo de manuseio do paciente no PO provavelmente também influenciam diretamente na morbidade. Considerando o que foi exposto acima, um pré-requisito para a elucidação definitiva do papel desempenhado pela reação inflamatória e seus mediadores, dentre eles algumas citocinas, na morbidade relacionada a cirurgia cardíaca com CEC seria a padronização da metodologia utilizada nos estudos clínicos, abrangendo a casuística, as técnicas de CEC, cirúrgica, anestésica e de manuseio no PO.

A dificuldade em se padronizar as técnicas de condução da CEC, cirúrgica, anestésica e de manuseio no PO se deve ao fato de que existe uma ampla variabilidade de técnicas utilizadas na prática clínica nos dias de hoje. Dessa forma, cada serviço que realiza cirurgias cardíacas pediátricas tem um conjunto de rotinas específicas que o diferencia em algum ponto de outros serviços e assim sucessivamente. A inexistência de evidências na literatura com força o suficiente para estabelecer a superioridade de uma destas rotinas com relação as outras parece ser a principal dificuldade para que o tratamento dos pacientes seja homogeneizado. Uma modificação significativa dos protocolos utilizados no manuseio do paciente antes, durante e após a cirurgia com relação aos já utilizados em determinado serviço é uma medida de difícil implantação no contexto da cirurgia cardíaca pediátrica e sujeita inclusive a questionamentos éticos. Além do mais, seria necessário que se fizessem tais modificações em todos os serviços que se dedicam a produção de conhecimento na área de tratamento cirúrgico de cardiopatias congênitas, o que demandaria um esforço cooperativo envolvendo muitos serviços em vários países com realidades completamente diferentes, considerando por exemplo a disponibilidade de recursos. Frente ao exposto acima é possível compreender a dimensão do problema relacionado a padronização do método empregado na avaliação do papel das citocinas na reação inflamatória em crianças submetidas a correção de cardiopatias congênitas com CEC e a consequente dificuldade na comparação de resultados dos estudos descritos na literatura até o momento.

A padronização das casuísticas incluídas nos estudos poderia parecer tarefa mais simples, no entanto nos parece ainda mais complexa quando avaliada frente a realidade brasileira. A seleção e inclusão em estudos de crianças com idade, diagnóstico e condição

clínica pré-operatória homogêneas é dificultada por vários fatores. Uma das características marcantes das cardiopatias congênitas é a sua ampla variabilidade. Dessa forma existe um significativo número de cardiopatias que são agrupadas mais comumente de acordo com a sua repercussão funcional. No entanto, mais importante do que a variabilidade anatômica das cardiopatias, é o contexto em que elas são tratadas. A realidade brasileira é caracterizada por um déficit significativo de centros capacitados para o tratamento destas doenças (PINTO JUNIOR et al., 2004). Além do mais, os centros existentes possuem graus variados de estruturação e capacitação o que pode determinar uma limitação no grau de complexidade das cardiopatias que serão tratadas (PINTO JUNIOR et al., 2004). O déficit de centros capacitados gera, como consequência, o surgimento de filas de espera para o tratamento. A organização das filas de espera se faz obedecendo critérios que definam prioridade na realização do tratamento, os quais, na maioria das vezes, não têm relação com o diagnóstico anatômico. O resultado dessa organização é que se torna praticamente impossível operar de forma consecutiva um grupo de pacientes com idade e diagnóstico comparáveis que tenham sido selecionados para inclusão em um grupo para estudo. Isto se deve ao fato de que vários outros pacientes com diferentes diagnósticos, mas com maior prioridade terão que ser operados no mesmo período de tempo de acordo com os critérios clínicos estabelecidos. O resultado dessa realidade do sistema de saúde no Brasil é que dificilmente se consegue incluir em um estudo, casuísticas realmente homogêneas, principalmente em centros menores como o aquele em que foi realizado nosso estudo. O HC-UFU tem a capacidade de realização de cerca de seis a oito cirurgias cardíacas pediátricas por mês, com estrutura e capacitação para tratamento de cardiopatias de baixa e média complexidade, enquanto teoricamente seria responsável por atender toda a demanda, relacionada à quase metade do estado de Minas Gerais. O estabelecimento de critérios muito rígidos considerando idade, diagnóstico anatômico e condição clínica pré-operatória visando homogeneizar a casuística inviabilizaria a realização do nosso estudo, pois o tempo necessário para a inclusão do número de pacientes pré-determinado seria demasiadamente longo. A justificativa apresentada acima explica algumas diferenças da casuística de nosso estudo com outras descritas na literatura considerando idade e diagnóstico anatômico, e a resultante dificuldade de comparação entre elas.

## 7 CONCLUSÕES

A análise de nossos dados nos permite concluir que:

- a) As concentrações plasmáticas de IL-6, IL-10 e MIF se elevaram significativamente no grupo de crianças estudadas com diagnóstico de cardiopatias congênitas não cianosantes com sobrecarga de volume de ventrículo esquerdo, caracterizadas como de baixo risco para mortalidade hospitalar, submetidas a cirurgia corretiva com CEC;
- b) As concentrações plasmáticas de IL-2, IL-4, IL-17, TNF-alfa e IFN-gama não se alteraram significativamente no grupo de crianças estudadas com diagnóstico de cardiopatias congênitas não cianosantes com sobrecarga de volume de ventrículo esquerdo, caracterizadas como de baixo risco para mortalidade hospitalar, submetidas a cirurgia corretiva com CEC;
- c) A concentração plasmática de IL-6 mensurada ao final da cirurgia se correlacionou positivamente com a necessidade de suporte inotrópico no PO, no grupo de crianças estudadas com diagnóstico de cardiopatias congênitas não cianosantes com sobrecarga de volume de ventrículo esquerdo, caracterizadas como de baixo risco para mortalidade hospitalar, submetidas a cirurgia corretiva com CEC;
- d) A concentração plasmática de IL-6 mensurada ao final da cirurgia não apresentou correlação com o tempo de CEC, tempo de pinçamento aórtico, escore de TISS cumulativo em três dias, índice de oxigenação, tempo de ventilação mecânica, tempo de internação na UTI e volume de sangramento no PO no grupo de crianças estudadas, com diagnóstico de cardiopatias congênitas não cianosantes com sobrecarga de volume de ventrículo esquerdo, caracterizadas como de baixo risco para mortalidade hospitalar, submetidas a cirurgia corretiva com CEC;
- e) As concentrações plasmáticas de IL-10 e MIF mensuradas ao final da cirurgia não se correlacionaram com o tempo de CEC, tempo de pinçamento aórtico, escore de TISS cumulativo em três dias, escore inotrópico, índice de oxigenação, tempo de ventilação mecânica, tempo de internação na UTI e volume de sangramento no PO no grupo de crianças estudadas com diagnóstico de cardiopatias congênitas não cianosantes com sobrecarga de volume de ventrículo esquerdo, caracterizadas como de baixo risco, submetidas a cirurgia corretiva com CEC;

- f) A transfusão de concentrado de hemácias não impactou na cinética das concentrações plasmáticas de IL-6, IL-10 e MIF no grupo de crianças estudadas com diagnóstico de cardiopatias congênitas não cianosantes com sobrecarga de volume de ventrículo esquerdo, caracterizadas como de baixo risco para mortalidade hospitalar, submetidas a cirurgia corretiva com CEC.

## REFERÊNCIAS

- ALLAN, C. et al. The Relationship Between Inflammatory Activation and Clinical Outcome After Infant Cardiopulmonary Bypass. *Anesth Analg*, Cleveland, v. 111, n. 5, p. 1.244-1.251, Nov. 2010.
- ALLEN, M. et al. Interleukin-10 and its role in clinical immunoparalysis following pediatric cardiac surgery. *Crit Care Med*, Philadelphia, v. 34, n. 10, p. 2.658-2.665, Oct. 2006.
- ASHRAF, S. et al. Effects of cardiopulmonary bypass on neonatal and pediatric inflammatory profiles. *Eur J Cardiothorac Surg*, [Berlin], v. 12, n. 6, p. 862-868, Dec. 1997.
- BACKMANN, F. et al. The hemostatic mechanism after open-heart surgery. I. Studies on plasma coagulation factors and fibrinolysis in 512 patients after extracorporeal circulation. *J Thorac cardiovasc Surg*, St. Louis, v. 70, n. 1, p. 76-85, July 1979.
- BOCSI, J. et al. Modulation of hte cellular and humoral immune response to pediatric open heart surgery by methylprednisolone. *Cytometry B Clin Cytom*, Hoboken, v. 80, n. 4, p. 212-220, July/Aug. 2011.
- BOEHM, J. et al. Tumor necrosis factor alfa 863 C/A promoter polymorphism affects the inflammatory response after cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg*, [Berlin], v. 40, n. 1, p. e50-e54, July 2011.
- BUTLER, J. et al. Acute-phase responses to cardiopulmonary bypass in children weighing less than 10 kilograms. *Ann Thorac Surg*, Amsterdam, v. 62, n. 2, p. 538-542, Aug. 1996.
- CALANDRA, T.; ROGER, T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity. *Nat Rev Immunol*, London, v. 3, n. 10, p. 791-800, Oct. 2003.
- FRANKE, A. et al. In vitro restoration of post-operatively decreased IFN-gamma levels after cardiac surgery and its effects on pro and anti-inflammatory mediators. *J Surg Res*, New York, v. 136, n. 2, p. 266-272, Dec. 2006.
- FRANKE, A. et al. Proinflammatory and Antiinflammatory Cytokines after Cardiac Operation: Different Cellular Sources at Different Times. *Ann Thorac Surg*, Amsterdam, v. 74, n. 2, p. 363-371, Aug. 2002.

FRANSEN, E. et al. Impact of blood transfusions on inflammatory mediator release in patients undergoing cardiac surgery. *Chest*, Northbrook, v. 116, n. 5, p. 1.233-1.239, Nov. 1999.

FUKUZAWA, J. et al. Contribution of macrophage migration inhibitory factor to extracellular signal-regulated kinase activation by oxidative stress in cardiomyocytes. *J Biol Chem*, Baltimore, v. 277, n. 28, p. 24.889-24.895, July 2002.

GAFFEN, S. An overview of IL-17 function and signaling. *Cytokine*, San Diego, v. 43, n. 3, p. 402-477, Sept. 2008.

GAO, X. et al. Deletion of macrophage migration inhibitory factor protects the heart from severe ischemia-reperfusion injury: a predominant role of anti-inflammation. *J Mol Cell Cardiol*, London, v. 50, n. 6, p. 991-999, June 2011.

GASZ, B. et al. Effect of cardiopulmonary bypass on cytokine network and Myocardial cytokine production. *Clin Cardiol*, Mahwah, v. 29, n. 7, p. 311-315, 2006.

GOLDSTEIN, B. et al. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med*, Baltimore, v. 6, n. 1, p. 2-8, Jan. 2005.

GOMES, A. et al. Effect of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in human placental explants infected with *Toxoplasma gondii* depends on gestational age. *Am J Pathol*, Philadelphia, v. 178, n. 1, p. 2.792-2.801, June 2011.

HIRAI, S. Systemic inflammatory response syndrome after cardiac surgery under cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*, Tokyo, v. 9, n. 6, p. 365-370, Dec. 2003.

HOFFMAN, J. Congenital Heart Disease. *Pediatric Clin North Am*, Philadelphia, v. 37, n. 1, p. 45-50, Feb. 1990.

HOLMES, J. et al. Magnitude of the inflammatory response to cardiopulmonary bypass and its relation to adverse clinical outcomes. *Inflamm Res*, Basel, v. 51, n. 12, p. 579-586, Dec. 2002.

HOVELS-GURICH, H. et al. Cytokine Balance in Infants Undergoing Cardiac Operation. *Ann Thorac Surg*, Amsterdam, v. 73, n. 2, p. 601-609, Feb. 2002.

HSIA, T. et al. Effects of aprotinin or tranexamic acid on proteolytic/cytokine profiles in infants after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg*, Amsterdam, v. 89, n. 6, p. 1.843-1.852, June 2010.

HUNTER, J.; DODDI, M. Sepsis and the heart. *Br J Anaesth*, London, v. 104, n. 1, p. 3-11, Jan. 2010.

JENKINS, K. et al. Consensus-based Method for Risk Adjustment for Surgery for Congenital Heart Disease. *J Thorac Cardiovasc Surg*, St. Louis, v. 123, n. 1, p. 110-118, Jan. 2002.

JIMENEZ, J. et al. Tranexamic acid attenuates inflammatory response in cardiopulmonary bypass surgery through blockade of fibrinolysis: a case control study followed by a randomized double-blind controlled trial. *Crit Care*, London, v. 11, n. 6, p. R117, 2007.

JOUAN, J. et al. Gene polymorphisms and cytokine plasma levels as predictive factors of complications after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*, St. Louis, 18 Jan. 2012. Epub ahead of print.

KAWAMURA, T.; WAKUSAWA, R.; INADA, K. Interleukin-10 and Interleukin-1 receptor antagonists increase during cardiac surgery. *Can J Anaesth*, New York, v. 44, n. 1, p. 38-42, Jan. 1997.

KAWAMURA, T. et al. Effects of sevoflurane on cytokine balance in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, Philadelphia, v. 20, n. 4, p. 503-508, Aug. 2006.

KEENE, A.; CULLEN, D. Therapeutic Intervention Scoring System: update 1983. *Crit Care Med*, Philadelphia, v. 11, n. 1, p. 1-3, Jan. 1983.

KISHIMOTO, T. IL-6: from its discovery to clinical applications. *Int Immunol*, Oxford, v. 22, n. 5, p. 347-352, May 2010.

KOGA, K. et al. Macrophage migration inhibitory factor provides cardioprotection during ischemia/reperfusion by reducing oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*, Larchmont, v. 14, n. 7, p. 1.191-1.202, Apr. 2011.

KOUCHOKOS, N. et al. *Barratt-Boyes Cardiac Surgery*. 3rd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2003. v. 1.

- KRISTIANSSON, M. et al. Cytokines in stored red blood cell concentrates: promoters of systemic inflammation and simulators of acute transfusion reactions. *Acta Anaesthesiol Scand*, Oxford, v. 40, n. 4, p. 496-501, Apr. 1996.
- LEAL-NOVAL, S. et al. Influence of red blood cell transfusion on CD4+ T-helper cells immune response in patients undergoing cardiac surgery. *J Surg Res*, Philadelphia, v. 164, n. 1, p. 43-49, Nov. 2010.
- LENG, L. et al. Glucocorticoid-induced MIF expression by human CEM T cells. *Cytokine*, San Diego, v. 48, n. 3, p. 177-185, Dec. 2009.
- LUE, H. et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): mechanisms of action and role in disease. *Microbes Infect*, Paris, v. 4, n. 4, p. 449-460, Apr. 2002.
- MADHOK, A. et al. Cytokine response in children undergoing surgery for congenital heart disease. *Pediatr Cardiol*, New York, v. 27, n. 4, p. 408-413, July/Aug. 2006.
- MARTINEZ, G. et al. Regulation and function of proinflammatory TH17 cells. *Ann NY Acad Sci*, New York, v. 1143, p. 188-211, Nov. 2008.
- MENDONÇA-FILHO, H. et al. Circulating Inflammatory mediators and organ dysfunction after cardiovascular surgery with cardiopulmonary bypass: a prospective observational study. *Crit Care*, London, v. 10, n. 2, p. R46, 2006.
- MENDONÇA-FILHO, H. et al. Circulating levels of macrophage migration inhibitory factor are associated with mild pulmonary dysfunction after cardiopulmonary bypass. *Shock*, Augusta, v. 22, n. 6, p. 533-537, Dec. 2004.
- MERCHANT, S. et al. Macrophage migration inhibitory factor in pediatric patients undergoing surgery for congenital heart repair. *Mol Med*, Cambridge, v. 14, n. 3/4, p. 124-130, Mar./Apr. 2008.
- MILLER, E. et al. Macrophage migration inhibitory factor stimulates AMP-activated protein kinase in the ischemic heart. *Nature*, London, v. 451, n. 7178, p. 578-582, Jan. 2008.
- MISOPH, M.; BABIN-EBELL, J. Interindividual variations in cytokine levels following cardiopulmonary bypass. *Heart Vessels*, Tokyo, v. 12, n. 3, p. 119-127, 1997.



MURPHY, G. et al. The effects of morphine and fentanyl on the inflammatory response to cardiopulmonary bypass in patients undergoing elective coronary artery bypass graft surgery. *Anesth Analg*, Baltimore, v. 104, n. 6, p. 1.334-1.342, June 2007.

NATHAN, N. et al. Plasma Interleukin-4, Interleukin-10, and Interleukin-13 Concentrations and Complications After Coronary Artery Bypass Graft Surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, Philadelphia, v. 14, n. 2, p. 156-160, Apr. 2000.

PANG, L. et al. Increased circulating bradykinin during hypothermia and cardiopulmonary bypass in children. *Circulation*, Hagerstown, v. 60, n. 7, p. 1.503-1.507, Dec. 1979.

PASNIK, J. et al. Proteolytic and cytokine balance abnormalities in children with congenital heart disease undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Kardiol Pol*, Warszawa, v. 65, n. 10, p. 1.208-1.214, Oct. 2007.

PASQUALI, S. et al. Comparative analysis of antifibrinolytic medications in pediatric heart surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*, St. Louis, v. 143, n. 3, p. 550-557, Mar. 2012.

PINTO JUNIOR, V. et al. Situação das cirurgias cardíacas congênitas no Brasil. *Rev Bras Cir Cardiovasc*, São José do Rio Preto, v. 19, n. 2, p. III-VI, abr./jun. 2004.

QI, D. et al. Cardiac macrophage migration inhibitory factor inhibits JNK pathway activation and injury during ischemia/reperfusion. *J Clin Invest*, New Haven, v. 119, n. 12, p. 3.807-3.816, Dec. 2009.

QING, M. et al. Intramyocardial synthesis of pro and anti-inflammatory cytokines in infants with congenital cardiac defects. *J Am Coll Cardiol*, [New York], v. 41, p. 2.266-2.274, 2003.

REYNOLDS, J.; ANGKASEKWINAI, P.; DONG, C. IL-17 family members cytokines: Regulation and function in innate immunity. *Cytokine Growth Factor Rev*, Oxford, v. 21, n. 6, p. 413-423, Dec. 2010.

SABAT, R. et al. Biology of Interleukin-10. *Cytokine Growth Factor Rev*, Oxford, v. 21, n. 5, p. 331-344, Oct. 2010.

SADOWSKI, S. Congenital cardiac Disease in the newborn infant: past, present and future. *Crit Care Nurs Clin North Am*, Philadelphia, v. 21, n. 1, p. 37-48, Mar. 2009.

SEGHAYE, M.-C. et al. Complement activation during cardiopulmonary bypass in infants and children. Relation to postoperative multiple system organ failure. *J Thorac Cardiovasc Surg*, St. Louis, v. 106, n. 6, p. 978-987, Dec. 1993.

SEGHAYE, M.-C. et al. Inflammatory reaction and capillary leak syndrome related to cardiopulmonary bypass in neonates undergoing cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg*, St. Louis, v. 112, n. 3, p. 687-697, Sept. 1996.

SENAY, S. et al. The impact of allogeneic red cell transfusion and coated bypass circuit on the inflammatory response during cardiopulmonary bypass: a randomized study. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, Amsterdam, v. 8, n. 1, p. 93-99, Jan. 2009.

SOARES, L. et al. Clinical profile of systemic inflammatory response after pediatric cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Arq Bras Cardiol*, São Paulo, v. 94, n. 1, p. 127-133, Jan. 2010.

STOPPE, C. et al. High postoperative blood levels of macrophage migration inhibitory factor are associated with less organ dysfunction in patients after cardiac surgery. *Mol Med*, Cambridge, 20 Apr. 2012. Epub ahead of print.

SUGISHITA, K. et al. Cellular basis for the acute inhibitory effects of IL-6 and TNF-alpha on excitation-contraction coupling. *J Mol Cell Cardiol*, London, v. 31, n. 8, p. 1.457-1.467, Aug. 1999.

TARNOK, A.; SCHNEIDER, P. Pediatric Cardiac Surgery with cardiopulmonary Bypass: pathways contributing to transient systemic immune suppression. *Shock*, Augusta, v. 16, p. 24-32, 2001. Suppl. 1.

TARNOK, A. et al. Complement Activation, Cytokines, and adhesion Molecules in Children undergoing cardiac Surgery with or without cardiopulmonary bypass. *Pediatr Cardiol*, New York, v. 20, n. 2, p. 113-125, Mar./Apr. 1999.

VAN DE POLL, T. et al. Antiinflammatory responses during clinical sepsis and experimental endotoxemia: Sequential measurements of plasma soluble interleukin(IL)-1, IL-10, and IL-13. *J Infect Dis*, Chicago, v. 175, n. 1, p. 118-122, Jan. 1997.

VARAN, B. et al. Systemic inflammatory response related to cardiopulmonary bypass and its modification by methyl prednisolone: high dose versus low dose. *Pediatr Cardiol*, New York, v. 23, n. 4, p. 437-441, July/Aug. 2002.

VICTORA, C. et al. Maternal and child health in Brazil: progress and challenges. *Lancet*, London, v. 377, n. 9.780, p. 1.863-1.876, May 2011.

WAN, S. et al. Myocardium is a major source of proinflammatory cytokines in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*, St. Louis, v. 112, n. 3, p. 806-811, Sept. 1996.

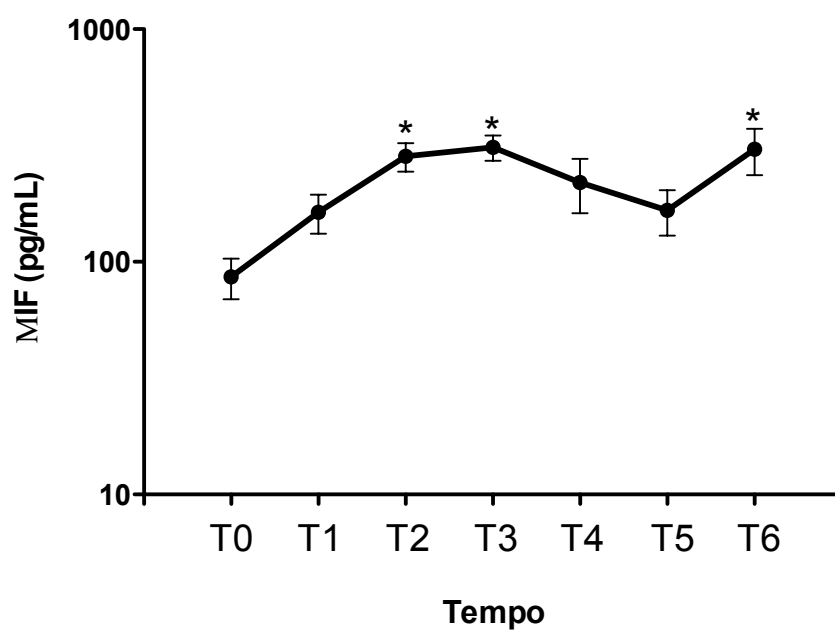
WEIS, F. et al. Stress doses of hydrocortisone in high-risk patients undergoing cardiac surgery: Effects on interleukin-6 to interleukin-10 ratio and early outcome. *Crit Care Med*, Philadelphia, v. 37, n. 5, p. 1.685-1.690, May 2009.

WERNOVSKY, G. et al. Postoperative course and hemodynamic Profile After the Arterial Switch Operation in Neonates and Infants. *Circulation*, Hagerstown, v. 92, n. 8, p. 2.226-2.235, Oct. 1995.

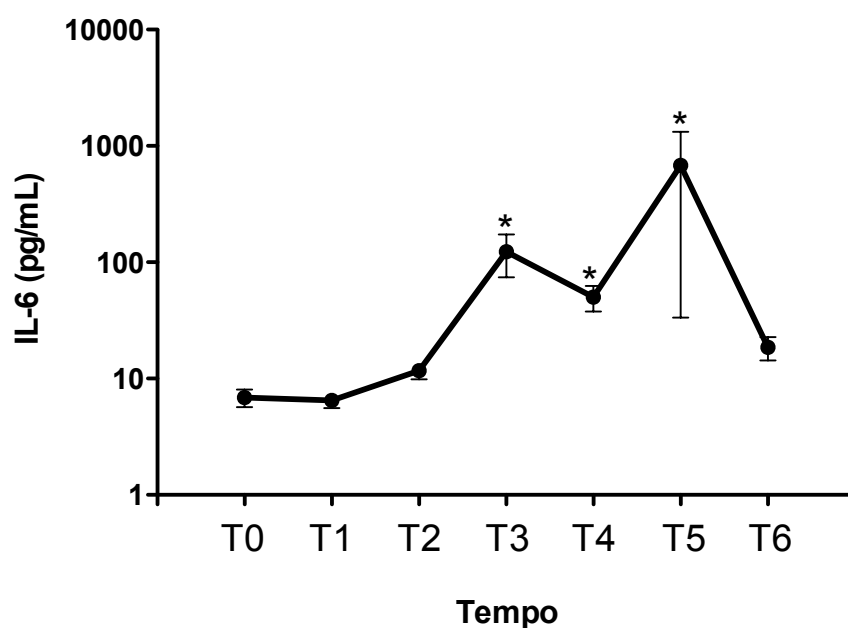
XIA, W. et al. Comparison of the effects of propofol and midazolam on inflammation and oxidase stress in children with congenital heart disease undergoing cardiac surgery. *Yonsei Med J*, Seoul, v. 52, n. 2, p. 326-332, Mar. 2011.

YU, C.-M. et al. Expression of macrophage migration inhibitory factor in acute ischemic myocardial injury. *J Histochem Cytochem*, Baltimore, v. 51, n. 5, p. 625-631, May 2003.

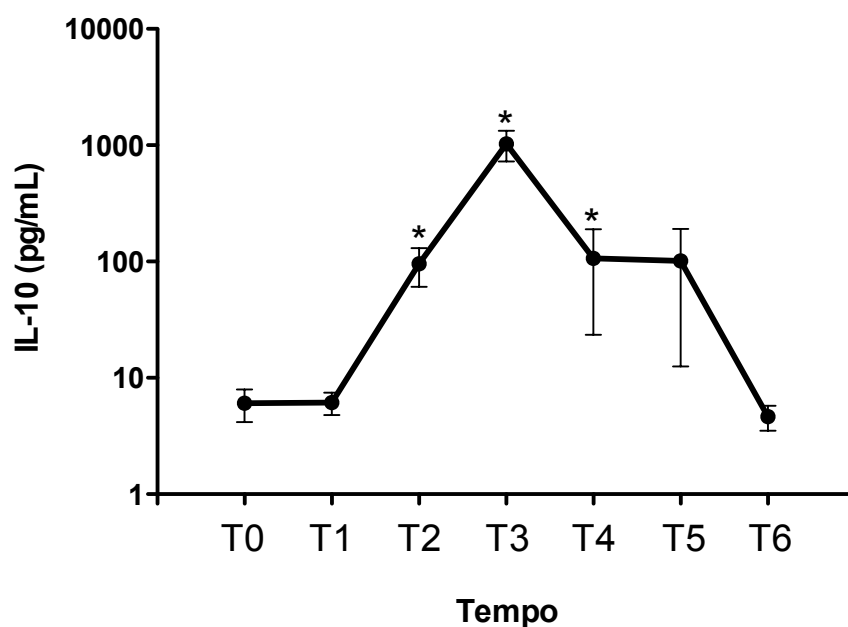
## APÊNDICE A - FIGURAS



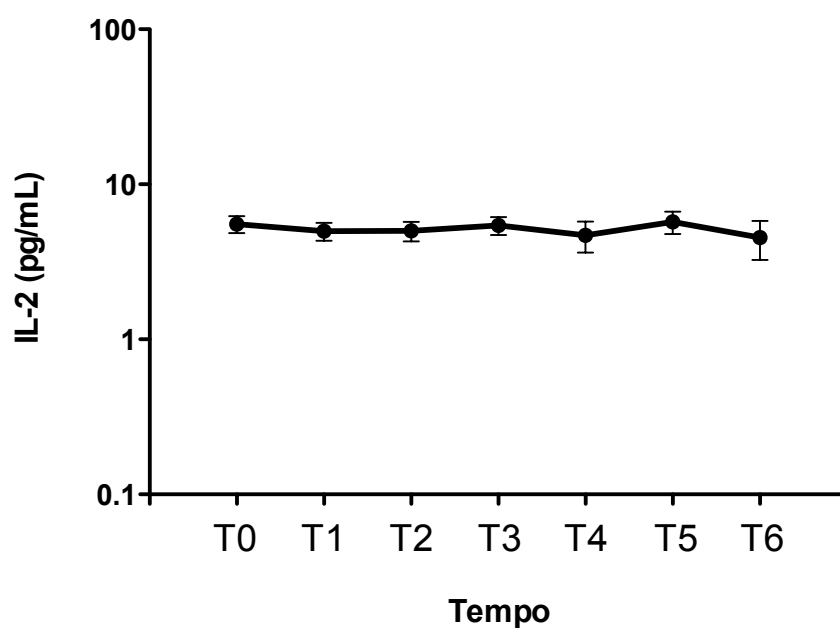
**Figura 1.** Cinética das concentrações plasmáticas de MIF nos períodos correspondentes a indução anestésica (T0), cinco minutos após o início da CEC (T1), cinco minutos após a abertura da pinça da aorta (T2), final do procedimento cirúrgico (T3), quatro horas após o final da cirurgia (T4), primeiro dia de PO (T5) e segundo dia de PO (T6). Os dados foram expressos como média  $\pm$  DP e analisados por ANOVA para medidas repetidas com pós teste de Bonferroni. \* $P < 0,05$ .



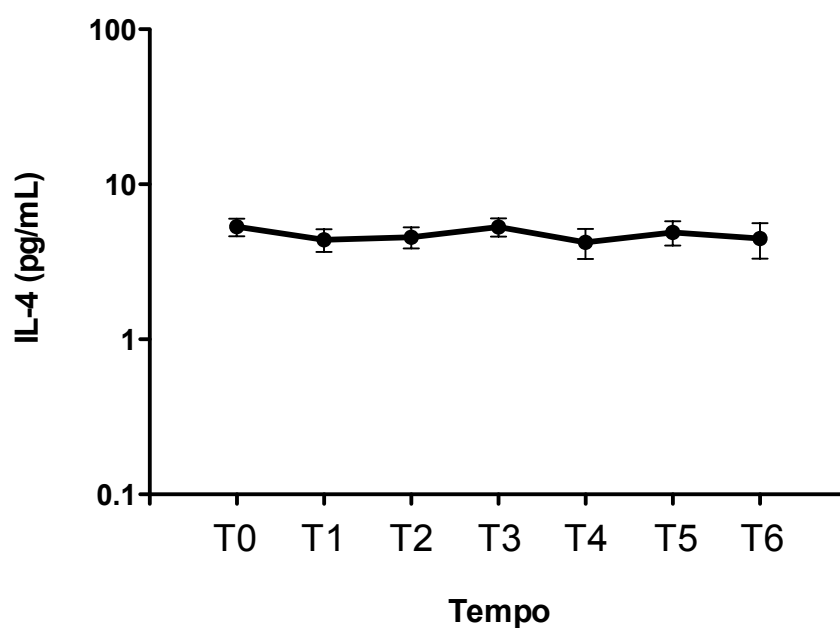
**Figura 2.** Cinética das concentrações plasmáticas de IL-6 nos períodos correspondentes a indução anestésica (T0), cinco minutos após o início da CEC (T1), cinco minutos após a abertura da pinça da aorta (T2), final do procedimento cirúrgico (T3), quatro horas após o final da cirurgia (T4), primeiro dia de PO (T5) e segundo dia de PO (T6). Os dados foram expressos como média  $\pm$  DP e analisados por ANOVA para medidas repetidas com pós teste de Bonferroni. \* $P < 0,05$ .



**Figura 3.** Cinética das concentrações plasmáticas de IL-10 nos períodos correspondentes a indução anestésica (T0), cinco minutos após o início da CEC (T1), cinco minutos após a abertura da pinça da aorta (T2), final do procedimento cirúrgico (T3), quatro horas após o final da cirurgia (T4), primeiro dia de PO (T5) e segundo dia de PO (T6). Os dados foram expressos como média  $\pm$  DP e analisados por ANOVA para medidas repetidas com pós teste de Bonferroni. \* $P < 0,05$ .

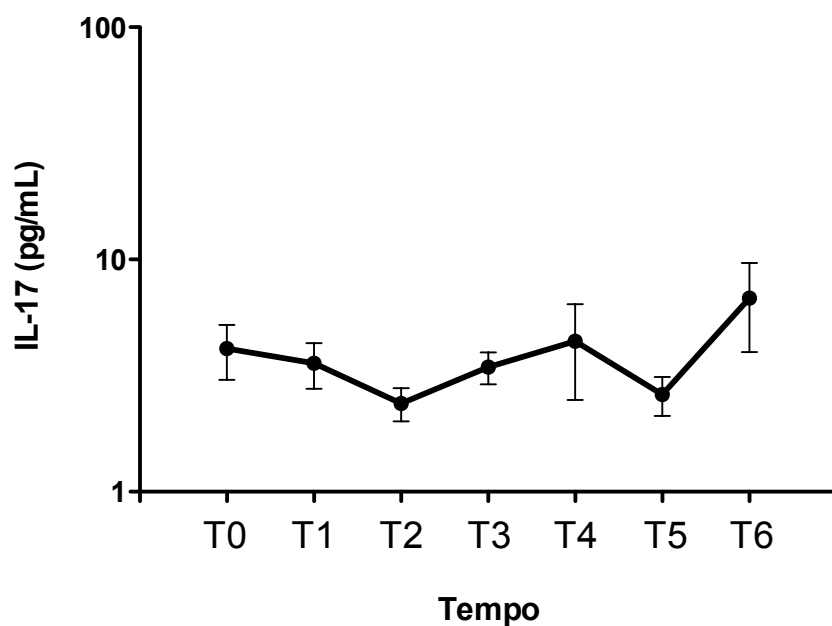


**Figura 4.** Cinética das concentrações plasmáticas de IL-2 nos períodos correspondentes a indução anestésica (T0), cinco minutos após o início da CEC (T1), cinco minutos após a abertura da pinça da aorta (T2), final do procedimento cirúrgico (T3), quatro horas após o final da cirurgia (T4), primeiro dia de PO (T5) e segundo dia de PO (T6). Os dados foram expressos como média  $\pm$  DP e analisados por ANOVA para medidas repetidas com pós teste de Bonferroni. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as medidas para um valor de  $\alpha=0,05$ .

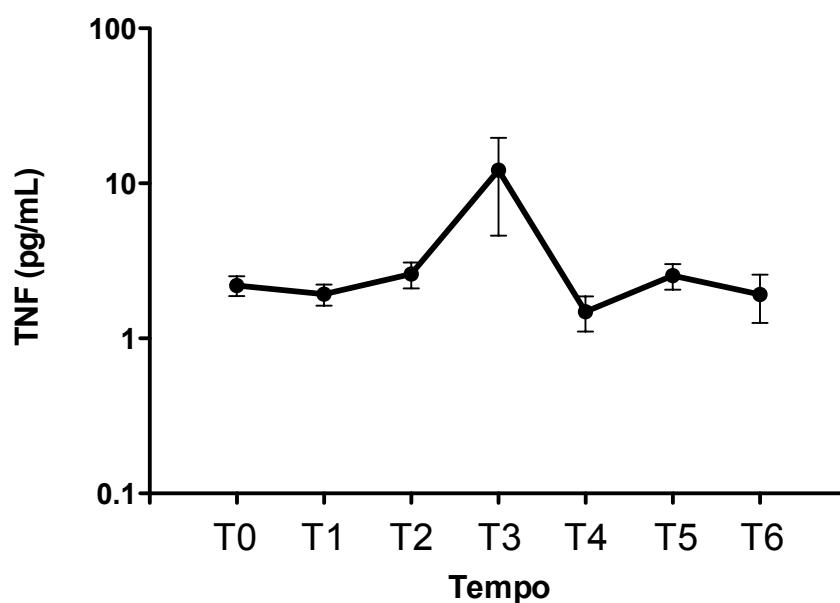


**Figura 5.** Cinética das concentrações plasmáticas de IL-4 nos períodos correspondentes a indução anestésica (T0), cinco minutos após o início da CEC (T1), cinco minutos após a abertura da pinça da aorta (T2), final do procedimento cirúrgico (T3), quatro horas após o final da cirurgia (T4), primeiro dia de PO (T5) e segundo dia de PO (T6). Os dados foram expressos como média  $\pm$  DP e analisados por ANOVA para medidas repetidas com pós teste de Bonferroni. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as medidas para um valor de  $\alpha=0,05$ .

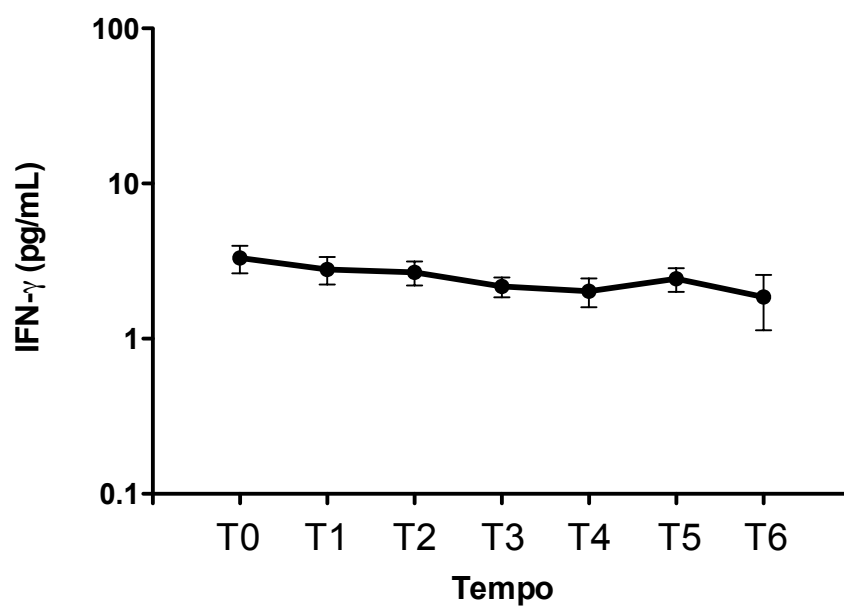




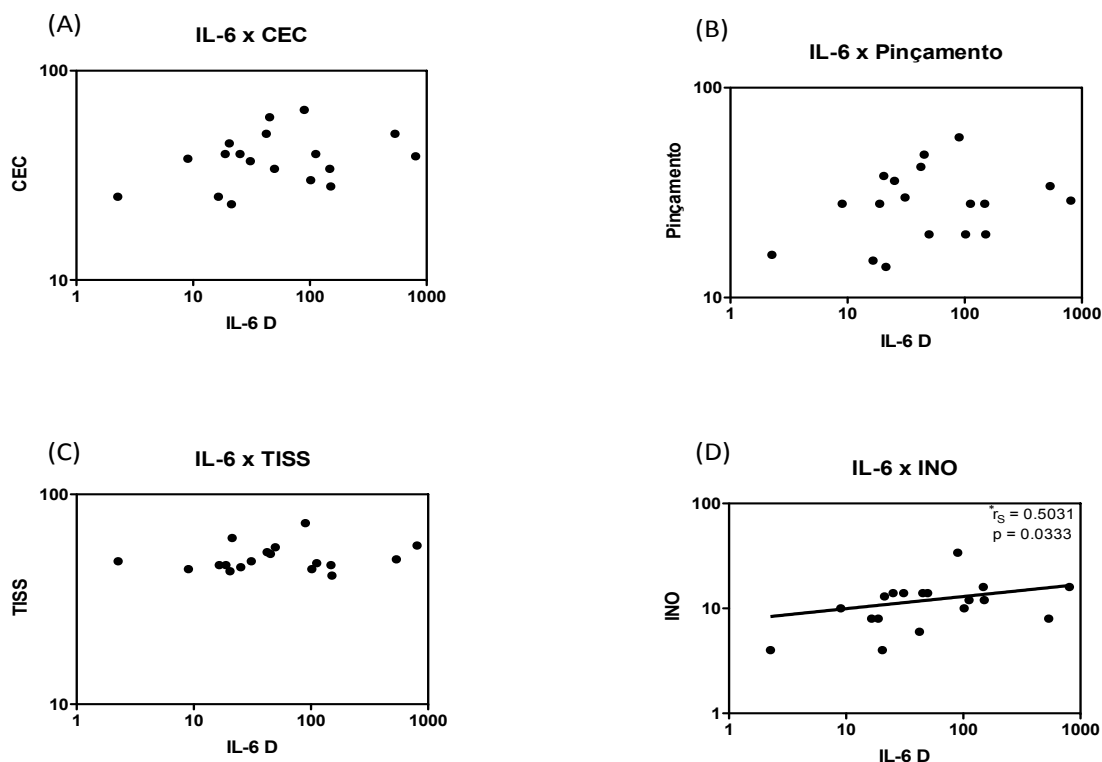
**Figura 6.** Cinética das concentrações plasmáticas de IL-17 nos períodos correspondentes a indução anestésica (T0), cinco minutos após o início da CEC (T1), cinco minutos após a abertura da pinça da aorta (T2), final do procedimento cirúrgico (T3), quatro horas após o final da cirurgia (T4), primeiro dia de PO (T5) e segundo dia de PO (T6). Os dados foram expressos como média  $\pm$  DP e analisados por ANOVA para medidas repetidas com pós teste de Bonferroni. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as medidas para um valor de  $\alpha=0,05$ .



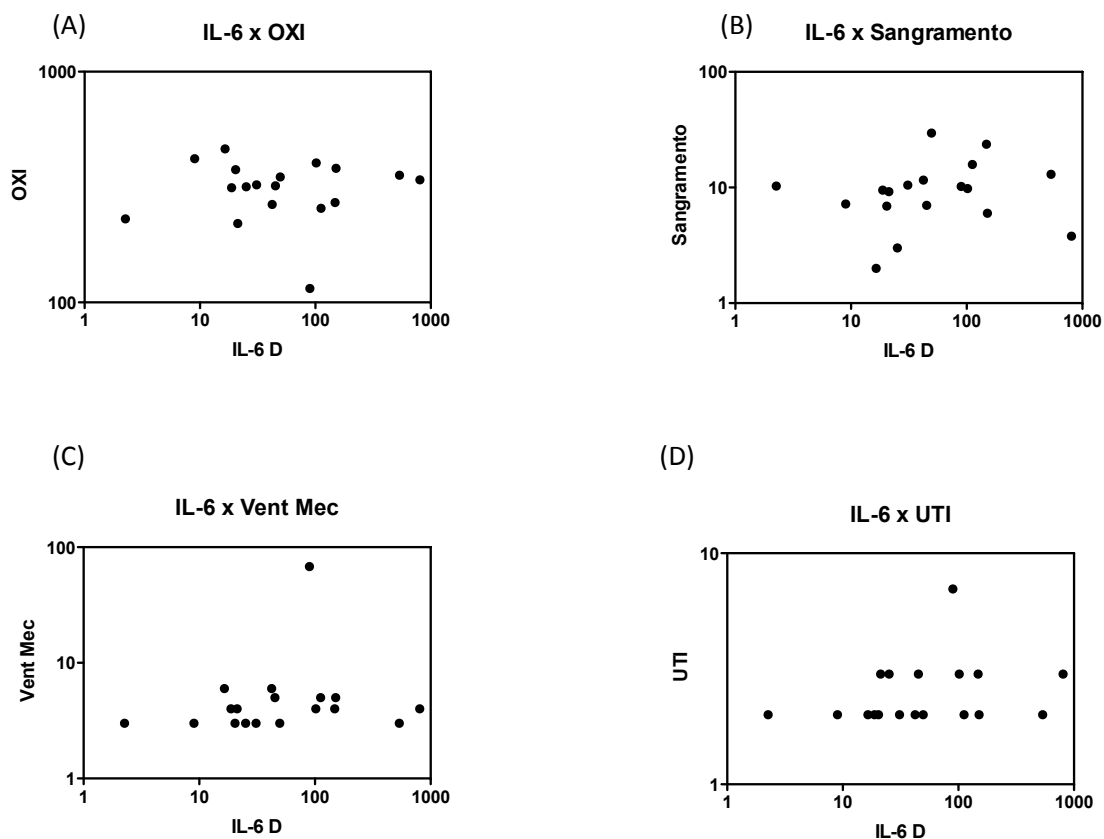
**Figura 7.** Cinética das concentrações plasmáticas de TNF- $\alpha$  nos períodos correspondentes a indução anestésica (T0), cinco minutos após o início da CEC (T1), cinco minutos após a abertura da pinça da aorta (T2), final do procedimento cirúrgico (T3), quatro horas após o final da cirurgia (T4), primeiro dia de PO (T5) e segundo dia de PO (T6). Os dados foram expressos como média  $\pm$  DP e analisados por ANOVA para medidas repetidas com pós teste de Bonferroni. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as medidas para um valor de  $\alpha=0,05$ .



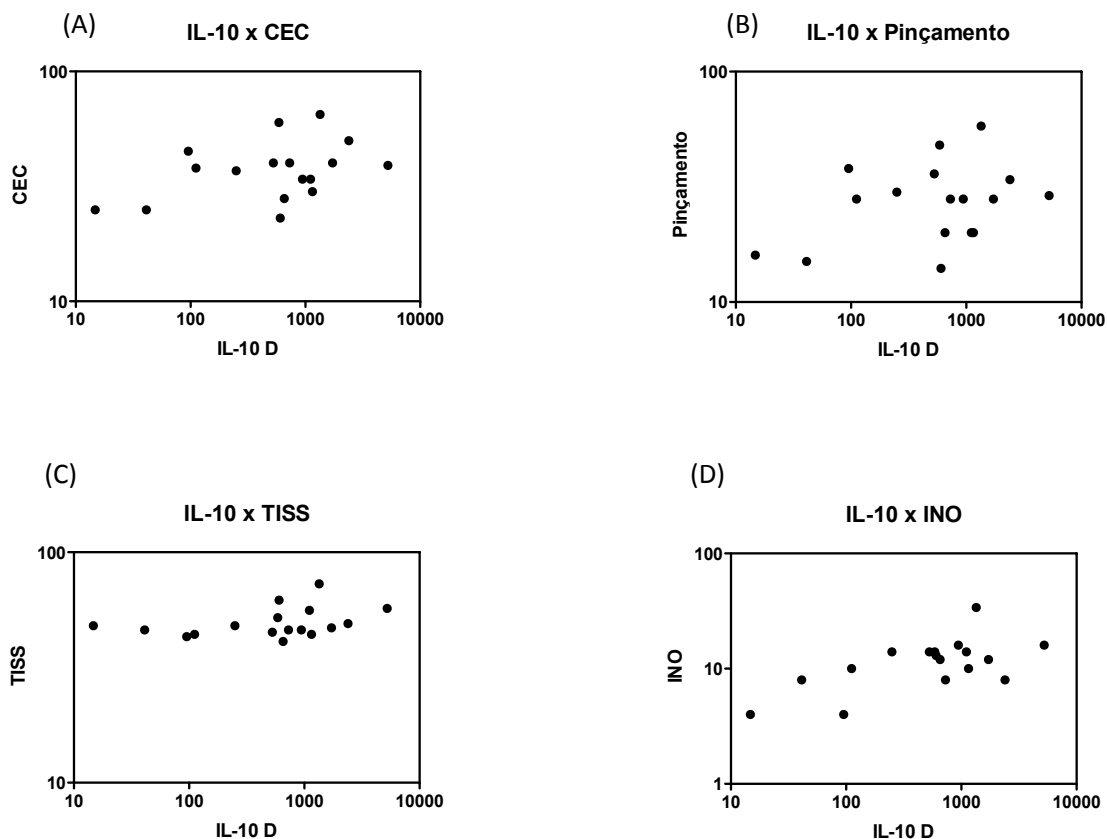
**Figura 8.** Cinética das concentrações plasmáticas de IFN- $\gamma$  nos períodos correspondentes a indução anestésica (T0), cinco minutos após o início da CEC (T1), cinco minutos após a abertura da pinça da aorta (T2), final do procedimento cirúrgico (T3), quatro horas após o final da cirurgia (T4), primeiro dia de PO (T5) e segundo dia de PO (T6). Os dados foram expressos como média  $\pm$  DP e analisados por ANOVA para medidas repetidas com pós teste de Bonferroni. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as medidas para um valor de  $\alpha=0,05$ .



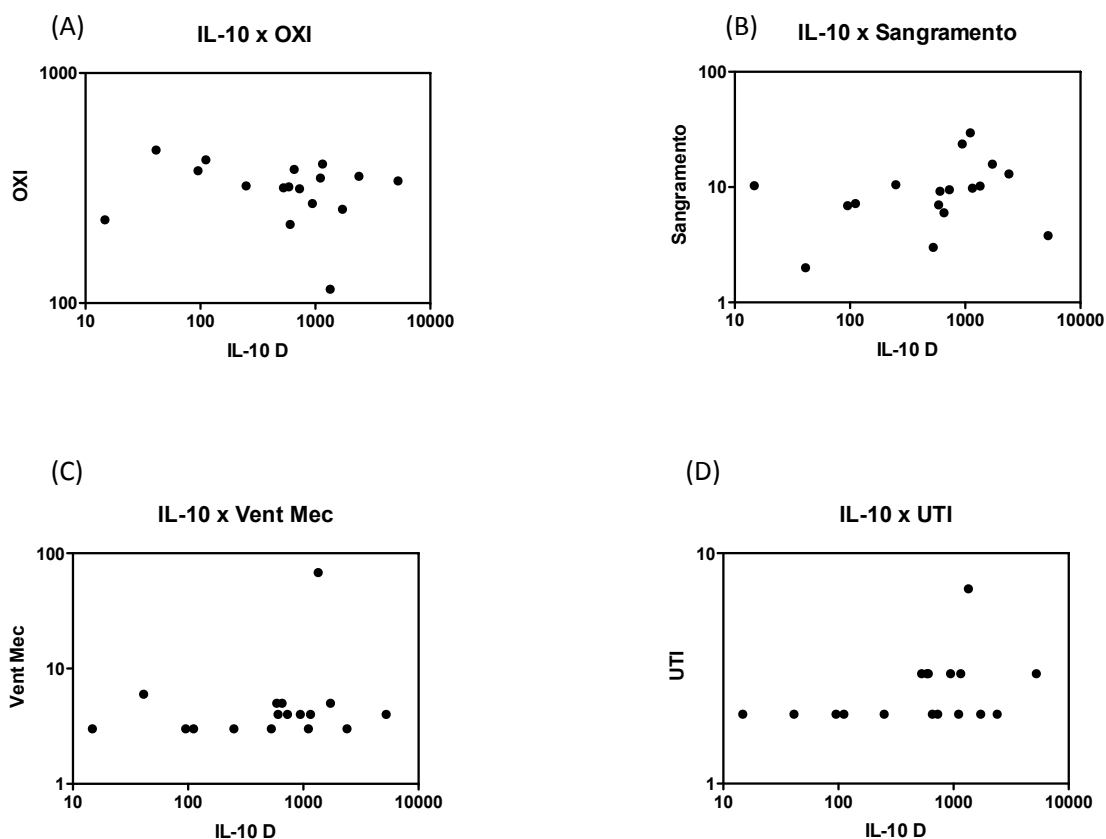
**Figura 9.** Avaliação da correlação das concentrações plasmáticas de IL-6 com quatro variáveis relacionadas a morbidade. A existência das correlações foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Pearson. (A) Correlação entre as concentrações plasmáticas de IL-6 mensuradas ao final do procedimento cirúrgico expressas em pg/ml, e o tempo de CEC expresso em minutos. (B) Correlação entre as concentrações plasmática de IL-6 mensuradas ao final do procedimento cirúrgico, expressas em pg/ml, e o tempo de pinçamento aórtico expresso em minutos. (C) Correlação entre as concentrações plasmática de IL-6 mensuradas ao final do procedimento cirúrgico, expressas em pg/ml, e o escore de TISS cumulativo nos primeiros três dias de PO. (D) Correlação entre as concentrações plasmática de IL-6 mensuradas ao final do procedimento cirúrgico, expressas em pg/ml, e o escore inotrópico.  $r_s$  = coeficiente de correlação.



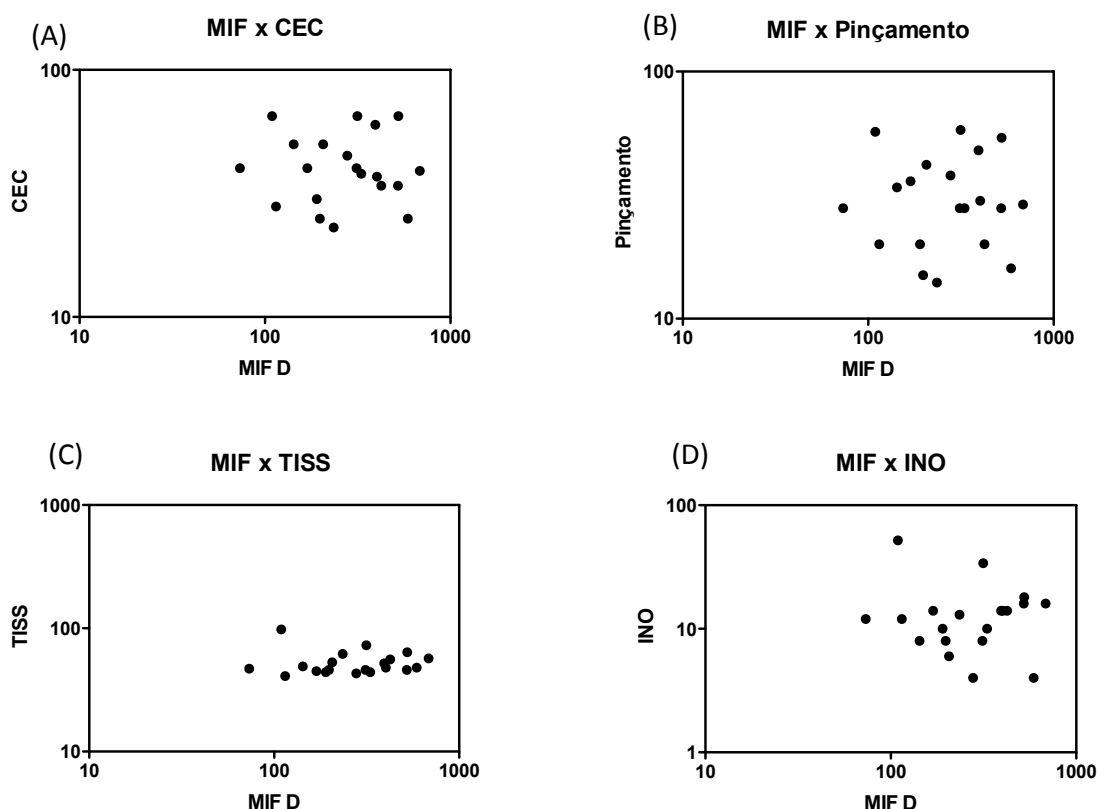
**Figura 10.** Avaliação da correlação das concentrações plasmáticas de IL-6 com quatro variáveis relacionadas a morbidade. A existência das correlações foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Pearson. (A) Correlação entre as concentrações plasmáticas de IL-6 mensuradas ao final do procedimento cirúrgico expressas em pg/ml, e o índice de oxigenação. (B) Correlação entre as concentrações plasmática de IL-6 mensuradas ao final do procedimento cirúrgico, expressas em pg/ml, e o volume de sangramento nos primeiros dois dias de PO expresso em ml/Kg de peso. (C) Correlação entre as concentrações plasmática de IL-6 mensuradas ao final do procedimento cirúrgico, expressas em pg/ml, e o tempo de ventilação mecânica expresso em horas. (D) Correlação entre as concentrações plasmática de IL-6 mensuradas ao final do procedimento cirúrgico, expressas em pg/ml, e o tempo de permanência na UTI expresso em dias.



**Figura 11.** Avaliação da correlação das concentrações plasmáticas de IL-10 com quatro variáveis relacionadas a morbidade. A existência das correlações foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Pearson. (A) Correlação entre as concentrações plasmáticas de IL-10 mensuradas ao final do procedimento cirúrgico expressas em pg/ml, e o tempo de CEC expresso em minutos. (B) Correlação entre as concentrações plasmática de IL-10 mensuradas ao final do procedimento cirúrgico, expressas em pg/ml, e o tempo de pinçamento aórtico expresso em minutos. (C) Correlação entre as concentrações plasmática de IL-10 mensuradas ao final do procedimento cirúrgico, expressas em pg/ml, e o escore de TISS cumulativo nos primeiros três dias de PO. (D) Correlação entre as concentrações plasmática de IL-10 mensuradas ao final do procedimento cirúrgico, expressas em pg/ml, e o escore inotrópico.

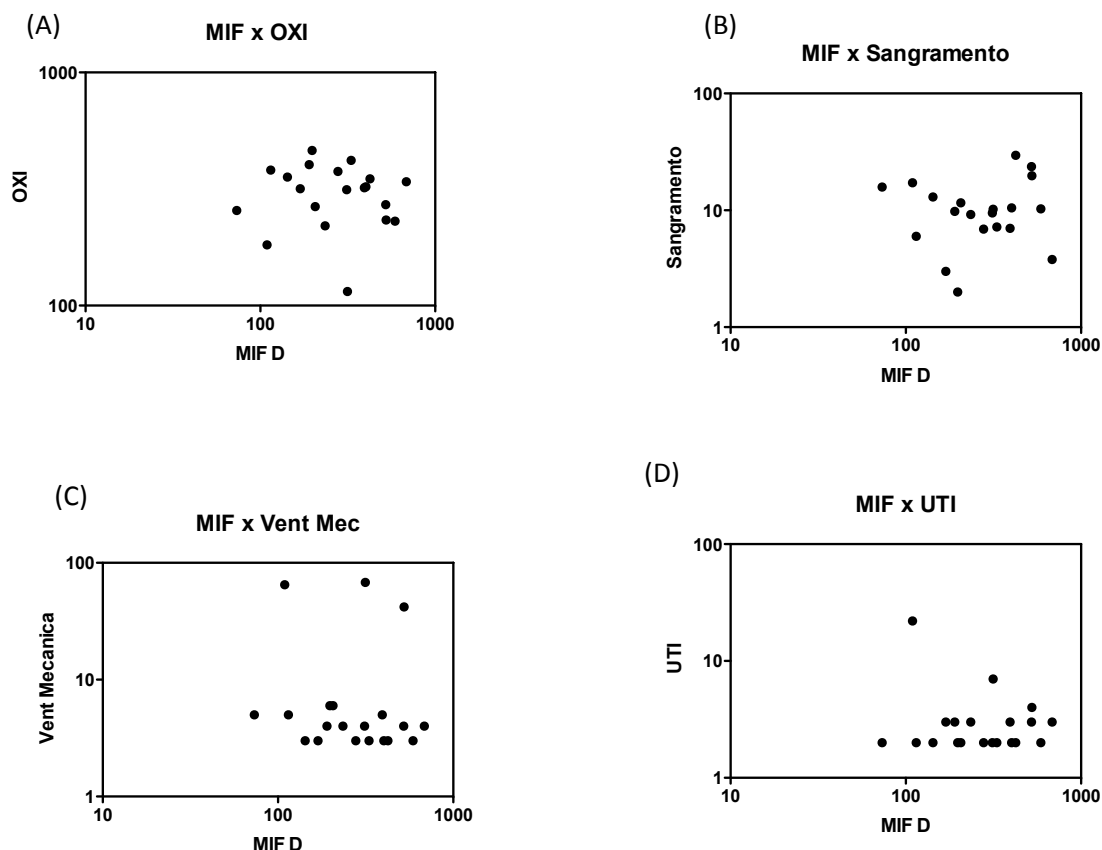


**Figura 12.** Avaliação da correlação das concentrações plasmáticas de IL-10 com quatro variáveis relacionadas a morbidade. A existência das correlações foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Pearson. (A) Correlação entre as concentrações plasmáticas de IL-10 mensuradas ao final do procedimento cirúrgico expressas em pg/ml, e o índice de oxigenação. (B) Correlação entre as concentrações plasmática de IL-10 mensuradas ao final do procedimento cirúrgico, expressas em pg/ml, e o volume de sangramento nos primeiros dois dias de PO expresso em ml/Kg de peso. (C) Correlação entre as concentrações plasmática de IL-10 mensuradas ao final do procedimento cirúrgico, expressas em pg/ml, e o tempo de ventilação mecânica expresso em horas. (D) Correlação entre as concentrações plasmática de IL-10 mensuradas ao final do procedimento cirúrgico, expressas em pg/ml, e o tempo de permanência na UTI expresso em dias.

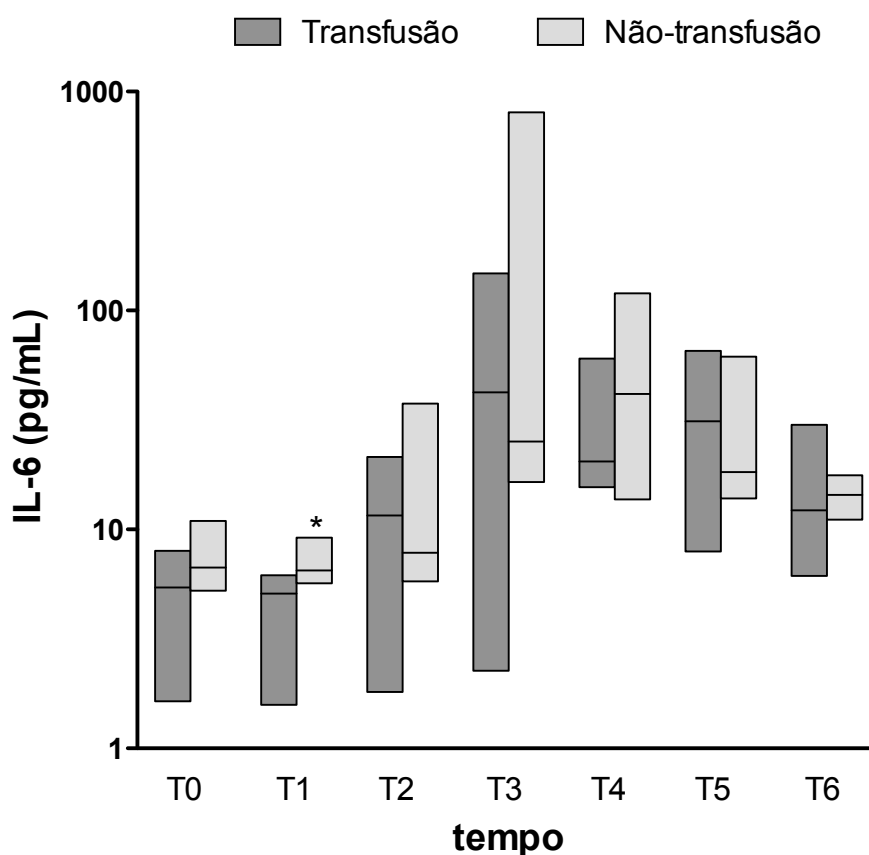


**Figura 13.** Avaliação da correlação das concentrações plasmáticas de MIF com quatro variáveis relacionadas a morbidade. A existência das correlações foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Pearson. (A) Correlação entre as concentrações plasmáticas de MIF mensuradas ao final do procedimento cirúrgico expressas em pg/ml, e o tempo de CEC expresso em minutos. (B) Correlação entre as concentrações plasmática de MIF mensuradas ao final do procedimento cirúrgico, expressas em pg/ml, e o tempo de pinçamento aórtico expresso em minutos. (C) Correlação entre as concentrações plasmática de MIF mensuradas ao final do procedimento cirúrgico, expressas em pg/ml, e o escore de TISS cumulativo nos primeiros três dias de PO. (D) Correlação entre as concentrações plasmática de MIF mensuradas ao final do procedimento cirúrgico, expressas em pg/ml, e o escore inotrópico.

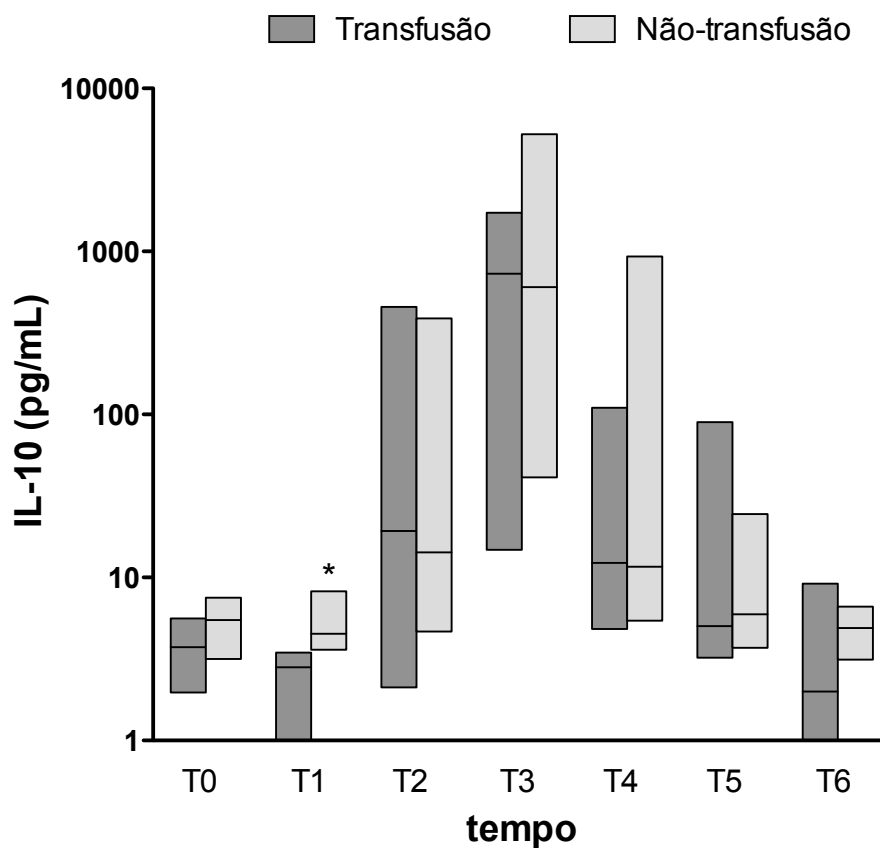




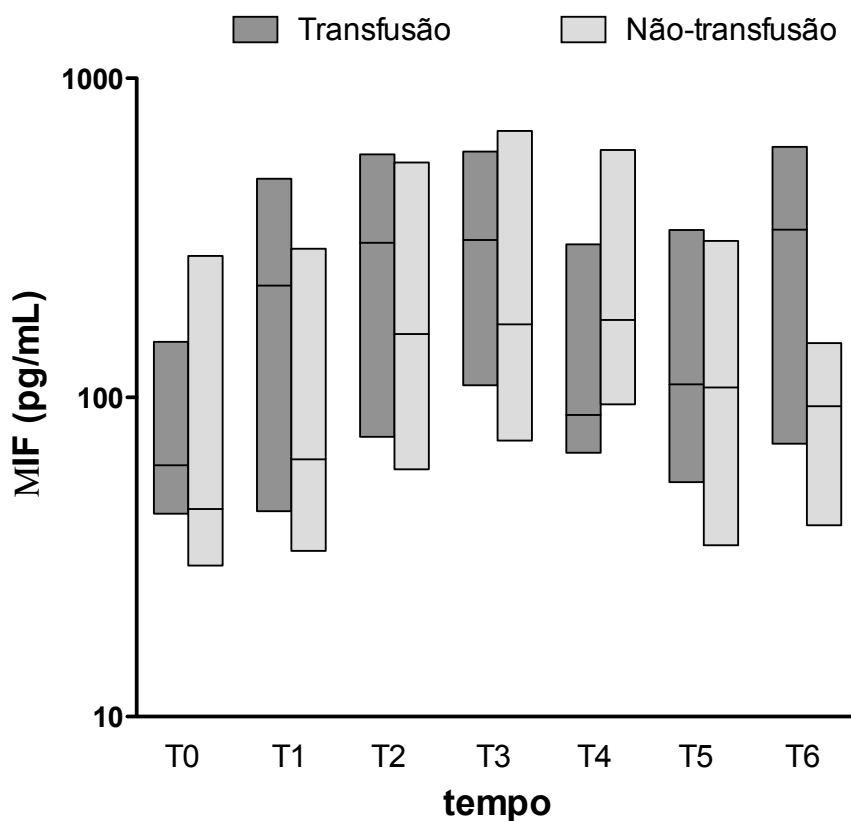
**Figura 14.** Avaliação da correlação das concentrações plasmáticas de MIF com quatro variáveis relacionadas a morbidade. A existência das correlações foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Pearson. (A) Correlação entre as concentrações plasmáticas de MIF mensuradas ao final do procedimento cirúrgico expressas em pg/ml, e o índice de oxigenação. (B) Correlação entre as concentrações plasmática de MIF mensuradas ao final do procedimento cirúrgico, expressas em pg/ml, e o volume de sangramento nos primeiros dois dias de PO expresso em ml/Kg de peso. (C) Correlação entre as concentrações plasmática de MIF mensuradas ao final do procedimento cirúrgico, expressas em pg/ml, e o tempo de ventilação mecânica expresso em horas. (D) Correlação entre as concentrações plasmática de MIF mensuradas ao final do procedimento cirúrgico, expressas em pg/ml, e o tempo de permanência na UTI expresso em dias.



**Figura 15.** Comparação entre os grupos de crianças transfundidas x não transfundidas com relação as concentrações plasmáticas de IL-6 em sete momentos diferentes: indução anestésica (T0), cinco minutos após o início da CEC (T1), cinco minutos após a abertura da pinça da aorta (T2), final do procedimento cirúrgico (T3), quatro horas após o final da cirurgia (T4), primeiro dia de PO (T5) e segundo dia de PO (T6). Os dados foram expressos como média  $\pm$  DP e analisados pelo teste de Mann-Whitney. \*P < 0,05.



**Figura 16.** Comparação entre os grupos de crianças transfundidas x não transfundidas com relação as concentrações plasmáticas de IL-10 em sete momentos diferentes: indução anestésica (T0), cinco minutos após o início da CEC (T1), cinco minutos após a abertura da pinça da aorta (T2), final do procedimento cirúrgico (T3), quatro horas após o final da cirurgia (T4), primeiro dia de PO (T5) e segundo dia de PO (T6). Os dados foram expressos como média  $\pm$  DP e analisados pelo teste de Mann-Whitney. \*P < 0,05.



**Figura 17.** Comparação entre os grupos de crianças transfundidas x não transfundidas com relação as concentrações plasmáticas de MIF em sete momentos diferentes: indução anestésica (T0), cinco minutos após o início da CEC (T1), cinco minutos após a abertura da pinça da aorta (T2), final do procedimento cirúrgico (T3), quatro horas após o final da cirurgia (T4), primeiro dia de PO (T5) e segundo dia de PO (T6). Os dados foram expressos como média  $\pm$  DP e analisados pelo teste de Mann-Whitney. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos para um valor de  $\alpha=0,05$ .

## APÊNDICE B – TABELAS

Tabela 1. Características Demográficas e Clínicas dos Pacientes Estudados

Parâmetro	Média (Desvio Padrão)	Mediana (Variação)	Pacientes Estudados (N=19)
Idade (anos)	5.7 (3.2)	5 (1-10)	
Peso (kg)	20.2 (11.6)	17.6 (4.5-49)	
Gênero (masculino/feminino)			9/10
Tipos de Defeito			
Comunicação interventricular (CIV)			7*
Comunicação interatrial (CIA)			5
Defeito do septo atrioventricular forma completa (DSAVT)			2**
CIA + drenagem anômala parcial de veias pulmonares			2
CIA+ estenose pulmonar			2
CIA + insuficiência mitral			1

\* Dois dos sete pacientes tinham sido submetidos previamente a bandagem do tronco pulmonar .

\*\* Ambos os pacientes apresentavam o diagnóstico associado de hipotireoidismo e Síndrome de Down.

Tabela 2. Variáveis Perioperatórias e Pós-operatórias.

Variáveis	Média (Desvio Padrão)	Mediana (Variação)
<i>Variáveis perioperatórias</i>		
Tempo de CEC (min)	42.3 (13.3)	40 (23-65)
Tempo de pinçamento aórtico (min)	32.5 (13.4)	28.5 (14-58)
<i>Variáveis Pós-operatórias</i>		
Escore de TISS*	49.9 (17)	47.5 (41-98)
Escore inotrópico **	12.9 (9.4)	12 (4-42)
Índice de Oxigenação	295 (106)	318 (115-463)
Sangramento pós-operatório (ml/kg)	10.9 (7.6)	9.7 (2-29.6)
Tempo de ventilação mecânica (h)	10.5 (18.9)	4 (3-68)
Tempo de internação na UTI (dias)	3.4 (4.4)	2 (2-22)
Tempo de internação hospitalar (dias)	8 (6.1)	6.5 (4-28)

\* “Therapeutic Interventional Scoring System” – resultado cumulativo dos três primeiros dias de pós-operatório.

\*\* Resultado cumulativo até a retirada do suporte inotrópico.

## ANEXO A - Escore de TISS

### Escore de TISS ("Therapeutic Intervention Scoring System")

O escore TISS classifica as possíveis intervenções terapêuticas em um paciente crítico em quatro grupos diferentes, e atribui a cada um dos grupos um valor numérico que vai de um a quatro. Abaixo descrevemos os quatro grupos com suas respectivas intervenções terapêuticas.

#### A. Intervenções terapêuticas que equivalem a quatro pontos:

1. Parada cardiorrespiratória e/ou desfibrilação nas últimas 48 horas. (deve-se manter a pontuação por dois dias após um episódio de parada cardiorrespiratória).
2. Ventilação mecânica controlada com ou sem PEEP.
3. Ventilação mecânica controlada com infusão de relaxante muscular contínuo ou intermitente.
4. Balão para tamponamento de varizes (balões de Sengstaken-Blackmore ou Linton).
5. Infusão arterial contínua (não inclui linha arterial).
6. Cateter em artéria pulmonar.
7. Passagem de marca-passo atrial e/ou ventricular (inclui uso de pelo menos um marca-passo, mesmo que crônico).
8. Hemodiálise em paciente instável.
9. Diálise peritoneal.
10. Hipotermia induzida (temperatura menor que 33°C).
11. Infusão de sangue sob pressão (inclui uso de bombas de pressão manuais para infusão rápida).
12. Roupas pressurizadas.
13. Monitorização de pressão intracraniana.
14. Transfusão de plaquetas.
15. Passagem de balão de contra-pulsção intra-aórtico.
16. Procedimento cirúrgico de emergência nas últimas 24 horas.
17. Lavagem de sangramento gastrointestinal agudo (inclusive para fins diagnósticos).
18. Endoscopia ou broncoscopia de emergência.
19. Infusão de mais de uma droga vasoativa.

#### B. Intervenções Terapêuticas que equivalem a três pontos:

1. Alimentação parenteral (inclui fluídos na insuficiência cardíaca, insuficiência renal e insuficiência hepática).
2. Marca-passo auxiliar.
3. Dreno de tórax.
4. ventilação mecânica controlada ou intermitente.
5. Uso de pressão positiva contínua nas vias aéreas (CPAP).
6. Correção de hipocalcemia via cateter central.
7. Intubação traqueal por via nasal ou oral.
8. Aspiração intra-traqueal as cegas.

9. Balanço metabólico frequente.
10. Múltiplas amostras de sangue ou sangria (número maior que quatro).
11. Infusão frequente de hemoderivados (mais que cinco unidades em 24 horas).
12. Medicação endovenosa em bolo não programada.
13. Infusão de 1 droga vasoativa.
14. Infusão contínua de antiarrítmicos.
15. Cardioversão elétrica para arritmia cardíaca.
16. Colchão para hipotermia.
17. Linha arterial.
18. Digitalização aguda (dentro de 48 horas).
19. Medida de débito cardíaco por qualquer método.
20. Diurese forçada com diurético devido a sobrecarga hídrica ou edema cerebral.
21. Tratamento para acidose metabólica.
22. Tratamento para alcalose metabólica.
23. Toracocentese ou pericardiocentese de emergência.
24. Anticoagulação ativa nas primeiras 4 horas.
25. Flebotomia para sobrecarga de volume.
26. Utilização de mais de um antibiótico endovenoso.
27. Tratamento de convulsão ou encefalopatia metabólica (dentro de 4 horas do início).
28. Tração ortopédica completa.

C. Intervenções terapêuticas que equivalem a dois pontos:

1. Monitorização da pressão venosa central.
2. Dois cateteres venosos periféricos.
3. Hemodiálise em paciente estável.
4. Traqueostomia aguda (menos de 48 horas da realização do procedimento).
5. Respiração espontânea via tubo endotraqueal ou tubo T.
6. Alimentação gástrica ou enteral.
7. Reposição de perda volêmica excessiva.
8. Quimioterapia parenteral.
9. Sinais vitais neurológicos de hora em hora.
10. Trocas múltiplas de curativos.
11. Uso de hormônio antidiurético endovenoso.

D. Intervenções terapêuticas que equivalem a um ponto:

1. Monitorização eletroencefalográfica.
2. Sinais vitais de hora em hora.
3. Um cateter periférico.
4. Anticoagulação crônica.
5. Balanço hídrico padrão a cada 24 horas.
6. Exame de sangue.
7. Medicação endovenosa intermitente de rotina.
8. Troca rotineira de curativos.
9. Tração ortopédica simples.
10. Cuidados com traqueostomia.
11. Escara de decúbito (não inclui medidas preventivas).



12. Cateter vesical.
13. Administração de oxigênio suplementar (nasal, máscara, tenda ou halo).
14. Administração de um ou 2 antibióticos.
15. Fisioterapia respiratória.
16. Irrigação extensa, curativos ou desbridamentos em ferimentos, fístulas, ou colostomias.
17. Descompressão gástrica.
18. Nutrição parenteral periférica ou infusão periférica de lipídios.

O escore de TISS é obtido por meio da somatória dos valores atribuídos a todas as intervenções terapêuticas realizadas naquele paciente. De acordo com o resultado obtido os pacientes são divididos em quatro classes:

Classe I: resultado da somatória menor que 10 pontos.

Classe II: resultado da somatória igual ou maior que 10 e menor que 19 pontos.

Classe III: resultado da somatória igual ou maior que 20 e menor que 39 pontos.

Classe IV: resultado da somatória igual ou maior que 40 pontos.

## ANEXO B - DADOS CLÍNICOS INDIVIDUALIZADOS

### DADOS CLÍNICOS INDIVIDUALIZADOS

Relação dos 19 pacientes incluídos no estudo e respectivos dados clínicos:

#### Paciente número 1

Iniciais: B.F.C.      Idade: 2 anos      Categoria Método RACH-S: 2  
Diagnóstico: Comunicação interventricular. Cirurgia prévia de bandagem do tronco pulmonar.  
Cirurgia realizada: ventriculoseptoplastia associada a ampliação do tronco pulmonar.  
Tempo de CEC: 60 minutos      Tempo de pinçamento aórtico: 48 minutos  
Transfusão de concentrado de hemácias: 200 ml.  
Transfusão de plasma fresco: 150 ml.  
Peso: 14,4 Kg.      Escore TISS: 52      Escore inotrópico: 14  
Índice de oxigenação: 320      Volume de sangramento: 7 ml/kg de peso  
Tempo de ventilação mecânica: 5 horas      Tempo na UTI: 3 dias  
Tempo de internação hospitalar: 8 dias.  
Apresentou infecção superficial de ferida operatória.

#### Paciente número 2

Iniciais: L.F.S.A.      Idade: 1 ano      Categoria Método RACH-S: 3  
Diagnóstico: defeito do septo atrioventricular forma completa. Diagnósticos associados de síndrome de Down e hipotireoidismo.  
Cirurgia realizada: Correção total (atriosseptoplastia, ventriculoseptoplastia e plástica da valva atrioventricular).  
Tempo de CEC: 65 minutos.      Tempo de pinçamento aórtico: 58 minutos.  
Transfusão de concentrado de hemácias: 300 ml.  
Transfusão de plasma fresco: 200 ml.  
Peso: 4,5 Kg.      Escore TISS: 73.      Escore inotrópico: 34.  
Índice de oxigenação: 191.      Volume de sangramento: 10,2 ml/kg de peso  
Tempo de ventilação mecânica: 68 horas      Tempo na UTI: 7 dias

Tempo de internação hospitalar: 23 dias.

Apresentou infecção do trato urinário.

### **Paciente número 3**

Iniciais: T.O.P.      Idade: 10 anos      Categoria Método RACH-S: 2

Diagnóstico: comunicação interventricular.

Cirurgia realizada: ventriculoseptoplastia.

Tempo de CEC: 40 minutos.      Tempo de pinçamento aórtico: 36 minutos.

Transfusão de concentrado de hemácias: 0 ml.

Transfusão de plasma fresco: 0 ml.

Peso: 34 Kg.      Escore TISS: 45.      Escore inotrópico: 14.

Índice de oxigenação: 94.      Volume de sangramento: 2 ml/kg de peso.

Tempo de ventilação mecânica: 3 horas.      Tempo na UTI: 3 dias.

Tempo de internação hospitalar: 6 dias.

Não apresentou infecção.

### **Paciente número 4**

Iniciais: A.G.M.      Idade: 10 anos      Categoria Método RACH-S: 3

Diagnóstico: comunicação interatrial tipo “ostium secundum” associada a insuficiência mitral.

Cirurgia realizada: atrioseptoplastia associada a plástica de valva mitral.

Tempo de CEC: 50 minutos.      Tempo de pinçamento aórtico: 34 minutos.

Transfusão de concentrado de hemácias: 0 ml.

Transfusão de plasma fresco: 0 ml.

Peso: 27 Kg.      Escore TISS: 49.      Escore inotrópico: 8.

Índice de oxigenação: 256.      Volume de sangramento: 13 ml/kg de peso.

Tempo de ventilação mecânica: 3 horas.      Tempo na UTI: 2 dias.

Tempo de internação hospitalar: 5 dias.

Não apresentou infecção.

**Paciente número 5**

Iniciais: A.L.S.B.      Idade: 4 anos      Categoria Método RACH-S: 2  
Diagnóstico: comunicação interventricular.  
Cirurgia realizada: ventriculoseptoplastia.  
Tempo de CEC: 40 minutos.      Tempo de pinçamento aórtico: 28 minutos.  
Transfusão de concentrado de hemácias: 250 ml.  
Transfusão de plasma fresco: 0 ml.  
Peso: 17 Kg.      Escore TISS: 46.      Escore inotrópico: 8.  
Índice de oxigenação: 322. Volume de sangramento: 9,5 ml/kg de peso.  
Tempo de ventilação mecânica: 4 horas.      Tempo na UTI: 2 dias.  
Tempo de internação hospitalar: 7 dias.  
Não apresentou infecção.

**Paciente número 6**

Iniciais: J.F.S.      Idade: 5 anos      Categoria Método RACH-S: 1  
Diagnóstico: comunicação interatrial tipo “ostium secundum”.  
Cirurgia realizada: atrioseptoplastia.  
Tempo de CEC: 28 minutos.      Tempo de pinçamento aórtico: 20 minutos.  
Transfusão de concentrado de hemácias: 0 ml.  
Transfusão de plasma fresco: 0 ml.  
Peso: 17 Kg.      Escore TISS: 41.      Escore inotrópico: 12.  
Índice de oxigenação: 404. Volume de sangramento: 9,5 ml/kg de peso.  
Tempo de ventilação mecânica: 5 horas.      Tempo na UTI: 2 dias.  
Tempo de internação hospitalar: 8 dias.  
Não apresentou infecção.

**Paciente número 7**

Iniciais: K.A.C.      Idade: 9 anos      Categoria Método RACH-S: 1  
Diagnóstico: comunicação interatrial tipo “ostium secundum”.  
Cirurgia realizada: atrioseptoplastia.

Tempo de CEC: 25 minutos. Tempo de pinçamento aórtico: 15 minutos.

Transfusão de concentrado de hemácias: 0 ml.

Transfusão de plasma fresco: 0 ml.

Peso: 41 Kg. Escore TISS: 46. Escore inotrópico: 8.

Índice de oxigenação: 474. Volume de sangramento: 2 ml/kg de peso.

Tempo de ventilação mecânica: 6 horas. Tempo na UTI: 2 dias.

Tempo de internação hospitalar: 6 dias.

Não apresentou infecção.

### **Paciente número 8**

Iniciais: R.G.C. Idade: 7 anos Categoria Método RACH-S: 1

Diagnóstico: comunicação interatrial tipo “ostium secundum”.

Cirurgia realizada: atrioseptoplastia.

Tempo de CEC: 30 minutos. Tempo de pinçamento aórtico: 20 minutos.

Transfusão de concentrado de hemácias: 300 ml.

Transfusão de plasma fresco: 0 ml.

Peso: 26 Kg. Escore TISS: 44. Escore inotrópico: 10.

Índice de oxigenação: 259. Volume de sangramento: 9,8 ml/kg de peso.

Tempo de ventilação mecânica: 4 horas. Tempo na UTI: 3 dias.

Tempo de internação hospitalar: 7 dias.

Não apresentou infecção.

### **Paciente número 9**

Iniciais: L.A.L. Idade: 9 anos Categoria Método RACH-S: 1

Diagnóstico: comunicação interatrial tipo “ostium secundum”.

Cirurgia realizada: atrioseptoplastia.

Tempo de CEC: 23 minutos. Tempo de pinçamento aórtico: 14 minutos.

Transfusão de concentrado de hemácias: 0 ml.

Transfusão de plasma fresco: 0 ml.

Peso: 26 Kg. Escore TISS: 62. Escore inotrópico: 13.

Índice de oxigenação: 460. Volume de sangramento: 9,2 ml/kg de peso.

Tempo de ventilação mecânica: 4 horas. Tempo na UTI: 3 dias.

Tempo de internação hospitalar: 6 dias.

Não apresentou infecção.

### **Paciente número 10**

Iniciais: A.M.R. Idade: 6 anos Categoria Método RACH-S: 2

Diagnóstico: comunicação interatrial tipo “ostium secundum” associada a estenose pulmonar valvar.

Cirurgia realizada: atrioseptoplastia associada a comissurotomia valvar pulmonar.

Tempo de CEC: 39 minutos. Tempo de pinçamento aórtico: 29 minutos.

Transfusão de concentrado de hemácias: 0 ml.

Transfusão de plasma fresco: 0 ml.

Peso: 26,5 Kg. Escore TISS: 57. Escore inotrópico: 16.

Índice de oxigenação: 366. Volume de sangramento: 3,8 ml/kg de peso.

Tempo de ventilação mecânica: 4 horas. Tempo na UTI: 3 dias.

Tempo de internação hospitalar: 8 dias.

Não apresentou infecção.

### **Paciente número 11**

Iniciais: A.F. Idade: 6 anos Categoria Método RACH-S: 1

Diagnóstico: comunicação interatrial tipo seio venoso associada a drenagem anômala parcial de veias pulmonares.

Cirurgia realizada: atrioseptoplastia associada a redirecionamento das veias pulmonares.

Tempo de CEC: 50 minutos. Tempo de pinçamento aórtico: 37 minutos.

Transfusão de concentrado de hemácias: 200 ml.

Transfusão de plasma fresco: 0 ml.

Peso: 21,6 Kg. Escore TISS: 48. Escore inotrópico: 14.

Índice de oxigenação: 400. Volume de sangramento: 10,5 ml/kg de peso.

Tempo de ventilação mecânica: 3 horas. Tempo na UTI: 2 dias.

Tempo de internação hospitalar: 6 dias.

Não apresentou infecção.

### **Paciente número 12**

Iniciais: S.S.V. Idade: 4 anos Categoria Método RACH-S: 2

Diagnóstico: comunicação interventricular.

Cirurgia realizada: ventriculosseptoplastia.

Tempo de CEC: 38 minutos. Tempo de pinçamento aórtico: 28 minutos.

Transfusão de concentrado de hemácias: 300 ml.

Transfusão de plasma fresco: 0 ml.

Peso: 16 Kg. Escore TISS: 44. Escore inotrópico: 10.

Índice de oxigenação: 430. Volume de sangramento: 7,2 ml/kg de peso.

Tempo de ventilação mecânica: 3 horas. Tempo na UTI: 2 dias.

Tempo de internação hospitalar: 5 dias.

Não apresentou infecção.

### **Paciente número 13**

Iniciais: F.V.O.L. Idade: 5 anos Categoria Método RACH-S: 2

Diagnóstico: comunicação interventricular. Cirurgia prévia de istmoplastia aórtica.

Cirurgia realizada: ventriculosseptoplastia.

Tempo de CEC: 50 minutos. Tempo de pinçamento aórtico: 42 minutos.

Transfusão de concentrado de hemácias: 200 ml.

Transfusão de plasma fresco: 200 ml.

Peso: 16 Kg. Escore TISS: 53. Escore inotrópico: 6.

Índice de oxigenação: 430. Volume de sangramento: 11,6 ml/kg de peso.

Tempo de ventilação mecânica: 6 horas. Tempo na UTI: 2 dias.

Tempo de internação hospitalar: 4 dias.

Não apresentou infecção.

**Paciente número 14**

Iniciais: I.A.J.S.      Idade: 8 anos      Categoria Método RACH-S: 2  
Diagnóstico: comunicação interatrial tipo “ostium secundum” associada a estenose valvar pulmonar.  
Cirurgia realizada: atrioseptoplastia associada a comissurotomia valvar pulmonar.  
Tempo de CEC: 34 minutos.      Tempo de pinçamento aórtico: 28 minutos.  
Transfusão de concentrado de hemácias: 150 ml.  
Transfusão de plasma fresco: 0 ml.  
Peso: 16 Kg.      Escore TISS: 46.      Escore inotrópico: 16.  
Índice de oxigenação: 413. Volume de sangramento: 23,7 ml/kg de peso.  
Tempo de ventilação mecânica: 4 horas.      Tempo na UTI: 3 dias.  
Tempo de internação hospitalar: 8 dias.  
Não apresentou infecção.

**Paciente número 15**

Iniciais: A.J.F.R.L.      Idade: 5 anos      Categoria Método RACH-S: 1  
Diagnóstico: comunicação interatrial tipo “ostium secundum”.  
Cirurgia realizada: atrioseptoplastia.  
Tempo de CEC: 25 minutos.      Tempo de pinçamento aórtico: 16 minutos.  
Transfusão de concentrado de hemácias: 200 ml.  
Transfusão de plasma fresco: 0 ml.  
Peso: 22 Kg.      Escore TISS: 48.      Escore inotrópico: 4.  
Índice de oxigenação: 426. Volume de sangramento: 10,3 ml/kg de peso.  
Tempo de ventilação mecânica: 3 horas.      Tempo na UTI: 2 dias.  
Tempo de internação hospitalar: 6 dias.  
Não apresentou infecção.

**Paciente número 16**

Iniciais: M.V.S.S.      Idade: 3 anos      Categoria Método RACH-S: 2



Diagnóstico: comunicação interventricular. Cirurgia prévia de istmoplastia aórtica associada a bandagem do tronco pulmonar.

Cirurgia realizada: ventriculoseptoplastia associada a ampliação do tronco pulmonar.

Tempo de CEC: 40 minutos. Tempo de pinçamento aórtico: 28 minutos.

Transfusão de concentrado de hemácias: 200 ml.

Transfusão de plasma fresco: 150 ml.

Peso: 14 Kg. Escore TISS: 47. Escore inotrópico: 12.

Índice de oxigenação: 270. Volume de sangramento: 15,8 ml/kg de peso.

Tempo de ventilação mecânica: 5 horas. Tempo na UTI: 2 dias.

Tempo de internação hospitalar: 8 dias.

Não apresentou infecção.

### **Paciente número 17**

Iniciais: G.S.S. Idade: 2 anos Categoria Método RACH-S: 1

Diagnóstico: comunicação interatrial tipo seio venoso associada a drenagem anômala parcial das veias pulmonares.

Cirurgia realizada: atrioseptoplastia associada a redirecionamento das veias pulmonares.

Tempo de CEC: 34 minutos. Tempo de pinçamento aórtico: 20 minutos.

Transfusão de concentrado de hemácias: 300 ml.

Transfusão de plasma fresco: 0 ml.

Peso: 10,6 Kg. Escore TISS: 56. Escore inotrópico: 14.

Índice de oxigenação: 180. Volume de sangramento: 29,6 ml/kg de peso.

Tempo de ventilação mecânica: 3 horas. Tempo na UTI: 2 dias.

Tempo de internação hospitalar: 7 dias.

Não apresentou infecção.

### **Paciente número 18**

Iniciais: B.T.S. Idade: 10 anos Categoria Método RACH-S: 2

Diagnóstico: comunicação interventricular.

Cirurgia realizada: ventriculosseptoplastia.

Tempo de CEC: 45 minutos. Tempo de pinçamento aórtico: 38 minutos.

Transfusão de concentrado de hemácias: 0 ml.

Transfusão de plasma fresco: 0 ml.

Peso: 49 Kg. Escore TISS: 43. Escore inotrópico: 4.

Índice de oxigenação: 460. Volume de sangramento: 7 ml/kg de peso.

Tempo de ventilação mecânica: 3 horas. Tempo na UTI: 2 dias.

Tempo de internação hospitalar: 4 dias.

Não apresentou infecção.

### **Paciente número 19**

Iniciais: A.C.A.F. Idade: 1 anos Categoria Método RACH-S: 3

Diagnóstico: defeito do septo atrioventricular na forma completa associado a persistência do canal arterial. Diagnósticos associados de hipotireoidismo e síndrome de Down.

Cirurgia realizada: correção total (atriosseptoplastia, ventriculosseptoplastia, plástica da valva atrioventricular e ligadura do canal arterial).

Tempo de CEC: 65 minutos. Tempo de pinçamento aórtico: 57 minutos.

Transfusão de concentrado de hemácias: 150 ml.

Transfusão de plasma fresco: 60 ml.

Peso: 6,2 Kg. Escore TISS: 98. Escore inotrópico: 42.

Índice de oxigenação: 173. Volume de sangramento: 27,3 ml/kg de peso.

Tempo de ventilação mecânica: 65 horas. Tempo na UTI: 22 dias.

Tempo de internação hospitalar: 28 dias.

Apresentou infecção superficial de ferida operatória.

## ANEXO C – RESULTADOS INDIVIDUALIZADOS DAS MENSURAÇÕES DAS CITOCINAS

Tabela 1. Valores das Concentrações Plasmáticas de IL-2 para os 19 pacientes estudados em sete momentos diferentes.

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Paciente							
1	6,91	6,23	6,88	6,95	8,47	7,35	6,50
2	6,77	5,79	6,50	7,51	7,06	9,09	7,54
3	7,35	6,50	6,84	7,62	6,99	6,70	n.d.
4	6,70	5,85	6,74	6,43	5,92	7,86	5,91
5	6,23	7,74	8,31	6,10	n.d.	n.d.	5,79
6	7,82	6,57	7,66	7,28	8,31	8,65	9,46
7	8,87	n.d.	8,65	8,35	6,95	8,47	8,82
8	7,09	6,91	6,30	7,17	7,58	8,31	n.d.
9	8,14	8,43	8,14	7,58	n.d.	9,09	7,65
10	8,48	7,21	6,84	6,57	6,42	6,23	n.d.
11	6,70	6,43	5,92	6,60	n.d.	6,64	5,87
12	6,37	6,50	6,91	6,60	7,21	n.d.	6,20
13	6,23	6,91	6,10	6,37	7,28	6,89	5,98
14	6,77	7,06	5,79	6,70	5,95	7,43	n.d.
15	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	3,21	0	n.d.	0
17	0	0	0	0	0	0	0
18	0	2,7	0	0	0	0	n.d.
19	3,68	3,43	2,45	0	3,28	0	3,13

\* amostra sanguínea não disponível.

Tabela 2. Valores das Concentrações Plasmáticas de IL-4 para os 19 pacientes estudados em sete momentos diferentes.

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Paciente							
1	7,28	7,09	6,57	6,81	6,99	7,28	7,02
2	7,28	6,50	6,74	6,88	7,35	6,84	7,74
3	7,51	6,50	7,02	7,13	7,86	7,20	n.d.
4	6,95	6,70	6,91	6,47	7,36	8,18	7,21
5	6,50	6,77	6,95	7,13	n.d.	n.d.	6,10
6	7,24	6,91	7,51	7,66	7,96	8,60	9,14
7	9,09	n.d.	8,56	8,43	6,70	8,31	8,78
8	8,14	8,10	7,82	6,64	7,43	5,92	n.d.
9	7,94	8,69	8,87	8,91	n.d.	8,35	8,32
10	7,98	7,13	7,20	6,91	7,02	7,32	n.d.
11	7,13	6,53	7,24	6,57	n.d.	6,88	7,28
12	6,84	7,28	6,40	6,23	6,92	n.d.	6,46
13	6,70	6,91	6,14	6,84	7,06	6,32	7,01
14	6,91	6,74	6,01	6,37	6,57	7,06	n.d.
15	5,56	0	0	0	0	5,38	6,38
16	0	0	0	0	0	n.d.	5,38
17	0	0	5,63	4,97	5,03	0	0
18	0	0	0	0	5,06	0	n.d.
19	5,01	0	0	0	0	0	0

\* amostra sanguínea não disponível.

Tabela 3. Valores das Concentrações Plasmáticas de IFN- $\gamma$  para os 19 pacientes estudados em sete momentos diferentes.

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Paciente							
1	1,94	2,80	2,31	2,65	2,89	2,75	1,92
2	2,68	2,00	2,75	2,89	2,92	3,57	3,22
3	2,49	2,68	2,13	2,92	3,53	2,13	n.d.
4	2,40	2,68	2,38	2,12	2,23	2,54	1,93
5	1,71	4,00	3,18	2,59	n.d.	n.d.	1,75
6	4,00	3,49	3,18	4,52	4,67	5,41	5,98
7	4,47	n.d.	4,43	3,74	2,65	4,26	4,19
8	3,18	3,10	2,80	3,09	4,33	3,49	n.d.
9	5,04	4,05	4,14	3,45	n.d.	3,70	4,23
10	4,23	3,10	3,85	2,37	2,45	2,62	n.d.
11	2,62	1,92	2,72	1,76	n.d.	2,65	2,33
12	2,52	3,26	2,11	2,51	2,91	n.d.	3,15
13	1,70	2,55	1,97	2,05	1,89	2,03	1,80
14	3,45	3,10	1,77	2,38	2,15	2,72	n.d.
15	0	0	0	0	0	1,71	0
16	0	0	0	0	1,73	n.d.	0
17	11,22	3,27	4,76	0	0	0	1,72
18	0	0	0	0	1,72	0	n.d.
19	9,46	11,22	9,24	2,89	1,78	0	0

\* amostra sanguínea não disponível.

Tabela 4. Valores das Concentrações Plasmáticas de TNF- $\alpha$  para os 19 pacientes estudados em sete momentos diferentes.

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Paciente							
1	2,48	2,59	2,05	2,05	1,84	2,31	2,19
2	2,59	2,19	2,46	2,19	2,56	5,15	3,49
3	3,49	2,79	2,68	3,14	3,45	2,72	n.d.
4	2,46	2,55	2,72	20,10	3,26	4,52	3,27
5	2,11	3,18	4,26	13,33	n.d.	n.d.	3,82
6	2,11	3,18	4,26	13,33	6,34	3,45	1,83
7	3,41	n.d.	3,18	3,87	3,76	3,80	5,35
8	3,83	2,40	6,10	9,84	2,28	4,78	n.d.
9	3,49	3,14	3,26	3,14	n.d.	3,53	4,07
10	3,87	3,74	9,65	146,22	1,98	3,53	n.d.
11	4,28	3,20	2,85	2,96	n.d.	2,04	4,15
12	2,05	2,68	2,79	2,73	2,14	n.d.	2,21
13	2,87	2,48	1,86	2,68	2,36	1,93	2,34
14	2,43	2,37	2,52	2,31	2,13	2,45	n.d.
15	2,43	2,02	1,87	1,89	2,31	3,66	0
16	0	0	0	0	0	n.d.	1,84
17	0	0	1,81	1,85	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	n.d.
19	0	0	1,83	0	0	0	0

\* amostra sanguínea não disponível.

Tabela 5. Valores das Concentrações Plasmáticas de IL-17 para os 19 pacientes estudados em sete momentos diferentes.

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Paciente							
1	2,28	2,75	2,14	2,52	2,70	2,13	5,58
2	2,15	2,52	2,21	2,92	5,44	2,79	3,61
3	5,61	2,84	2,15	2,16	2,46	3,14	n.d.
4	2,22	2,49	2,46	2,29	2,18	2,83	3,61
5	2,17	3,68	2,96	2,92	n.d.	n.d.	2,49
6	6,57	2,60	3,62	2,38	2,31	5,49	4,83
7	5,15	n.d.	4,67	10,20	3,83	4,43	4,09
8	8,14	2,28	4,88	4,09	4,80	5,21	n.d.
9	5,13	3,83	4,47	2,34	n.d.	3,16	4,60
10	5,52	2,29	2,87	4,33	4,73	3,45	n.d.
11	2,61	3,03	2,44	2,52	n.d.	3,33	2,75
12	2,43	2,11	2,26	2,89	3,12	n.d.	2,52
13	2,62	3,20	3,66	2,19	2,17	2,21	2,70
14	3,24	2,19	2,14	2,18	2,32	2,24	n.d.
15	3,62	0	6,27	2,24	0	0	0
16	21,55	0	0	4,93	0	n.d.	28,12
17	0	0	2,26	7,30	23,43	0	2,29
18	0	6,61	0	0	2,63	0	n.d.
19	0	14,21	0	0	0	0	10,36

\* amostra sanguínea não disponível.

Tabela 6. Valores das Concentrações Plasmáticas de IL-6 para os 19 pacientes estudados em sete momentos diferentes.

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Paciente							
1	5,26	7,02	7,9	45,14	95,47	54,48	10,97
2	5,92	9,79	13,33	89,58	19,72	9732,77	46,40
3	6,43	5,67	7,54	25,18	13,72	14,33	n.d.
4	6,37	6,07	5,79	536,61	43,16	13,68	7,61
5	9,46	9,00	8,91	150,93	n.d.	n.d.	11,08
6	6,70	6,50	6,84	16,47	28,56	61,63	17,68
7	7,98	n.d.	14,26	101,74	17,77	25,66	11,30
8	7,21	7,09	8,22	21,27	119,79	18,28	n.d.
9	10,92	9,18	37,54	804,84	n.d.	20,29	12,51
10	7,51	5,38	7,28	30,91	31,10	31,20	n.d.
11	5,44	4,62	12,95	18,81	n.d.	61,08	4,87
12	5,24	5,79	5,89	9,00	8,61	n.d.	5,23
13	5,26	6,10	7,82	20,38	41,55	19,59	4,90
14	5,98	6,17	4,33	42,32	30,91	28,30	n.d.
15	3,92	4,82	17,09	147,93	56,20	7,93	6,14
16	2,64	2,28	2,81	2,26	15,6	n.d.	13,12
17	0	0	21,45	112,08	60,26	44,46	30,08
18	0	0	11,59	49,71	20,41	65,36	n.d.
19	4	11,75	9,35	116,82	18,69	17,64	19,9

\* amostra sanguínea não disponível.



Tabela 7. Valores das Concentrações Plasmáticas de IL-10 para os 19 pacientes estudados em sete momentos diferentes.

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Paciente							
1	4,70	6,23	7,74	587,21	16,08	7,20	4,61
2	5,49	17,52	58,89	1344,57	12,10	1344,57	10,04
3	5,79	4,52	14,26	527,03	5,44	4,70	n.d.
4	4,57	4,61	4,67	2391,80	8,62	5,88	4,87
5	5,49	5,92	7,66	654,25	n.d.	n.d.	5,14
6	5,61	4,59	5,73	41,17	6,81	24,48	6,64
7	5,61	n.d.	128,80	1153,78	4,83	6,88	9,18
8	4,53	5,79	18,63	603,30	929,56	5,95	n.d.
9	7,51	8,22	387,91	5231,99	n.d.	9,75	8,51
10	5,10	4,58	14,40	249,29	46,38	4,59	n.d.
11	4,51	4,51	456,25	728,93	n.d.	89,58	7,38
12	4,63	4,66	18,46	111,40	11,63	n.d.	5,28
13	4,83	4,57	4,52	95,47	32,98	5,04	4,51
14	4,81	4,87	19,25	942,47	27,37	4,79	n.d.
15	0	0	4,51	14,79	8,01	5,98	0
16	4,59	0	258,02	1723,87	109,94	n.d.	4,58
17	0	4,56	369,10	1108,6	12,27	4,62	0
18	11,65	17,1	46,51	54,12	38,23	12,41	n.d.
19	4,57	22,12	21,24	26,34	25,92	0	4,76

\* amostra sanguínea não disponível.

Tabela 8. Valores das Concentrações Plasmáticas de MIF para os 19 pacientes estudados em sete momentos diferentes.

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Paciente							
1	307,22	369,70	610,31	393,57	555,11	211,23	576,56
2	39,23	190,30	315,40	315,40	244,86	560,49	373,36
3	83,55	64,06	158,15	169,37	596,12	34,40	n.d.
4	29,72	88,16	135,67	142,89	132,21	128,26	138,42
5	30,98	33,03	59,50	114,74	n.d.	n.d.	39,77
6	37,25	64,06	109,90	197,87	66,54	62,50	148,00
7	51,73	n.d.	263,25	190,30	80,38	116,88	369,96
8	64,75	70,72	179,78	234,64	175,08	107,38	n.d.
9	277,87	292,64	544,14	684,54	n.d.	309,42	462,29
10	43,22	65,90	336,56	401,44	87,43	54,27	n.d.
11	43,22	209,91	303,14	311,51	n.d.	334,48	345,61
12	70,72	269,36	416,21	330,31	306,49	n.d.	301,04
13	44,75	48,84	401,44	73,26	95,21	86,31	81,41
14	46,34	43,98	196,10	109,22	67,07	61,41	n.d.
15	80,92	238,63	305,14	278,13	241,27	109,95	265,21
16	61,30	63,73	75,33	206,13	145,77	n.d.	71,67
17	145,51	351,86	501,05	521,05	301,66	212,23	610,07
18	104,12	483,93	577,44	589,35	88,14	60,70	n.d.
19	97,77	76,10	90,12	524,31	64,98	132,73	58,96

\* amostra sanguínea não disponível.

## ANEXO D - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



Universidade Federal de Uberlândia  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP  
Av. João Naves de Ávila, nº 2160 - Bloco J - Campus Santa Mônica - Uberlândia-MG -  
CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4531

### ANÁLISE FINAL Nº 360/07 DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEP/UFU: 180/07

**Projeto Pesquisa:** *"Resposta das citocinas em crianças submetidas a correções de cardiopatias congênitas com o uso de circulação extracorpórea"*

**Pesquisador Responsável:** Cláudio Ribeiro da Cunha

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, o CEP manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto, com a seguinte **Recomendação:**  
**Sempre que enviar protocolo de pesquisa ao CEP/UFU, entregar planilha de custo com estimativa dos custos, ainda que os mesmos sejam arcados pelos pesquisadores.**

**Situação:** O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com seres humanos, nos limites da redação e da metodologia apresentadas.

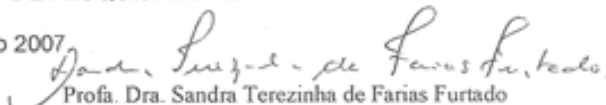
O CEP/UFU lembra que:

- a- segundo a Resolução 196/96, o pesquisador deverá arquivar por 5 anos o relatório da pesquisa e os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido, assinados pelo sujeito de pesquisa.
- b- poderá, por escolha aleatória, visitar o pesquisador para conferência do relatório e documentação pertinente ao projeto.
- c- a aprovação do protocolo de pesquisa pelo CEP/UFU dá-se em decorrência do atendimento a Resolução 196/96/CNS, não implicando na qualidade científica do mesmo.

Data para entrega do Relatório Final: julho/2008

**SITUAÇÃO: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO.**

Uberlândia, 16 de setembro 2007

  
Prof.ª Dra. Sandra Terezinha de Farias Furtado  
Coordenadora do CEP/UFU

Orientações ao pesquisador:

(Para parecer Aprovado ou Aprovado com Recomendações)

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 - Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.2), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA - junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, item III.2.e). O prazo para entrega de relatório é de 120 dias após o término da execução prevista no cronograma do projeto, conforme norma da Res. 196/96 CNS.