Maria Francilene Silva Souza

Elementos hemodinâmicos e de resposta inflamatória e seu papel prognóstico no contexto do tratamento cirúrgico em pacientes pediátricos com cardiopatia congênita e hipertensão pulmonar

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Ciências

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Antonio Augusto Barbosa Lopes

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 01 de novembro de 2011. A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

São Paulo

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Souza, Maria Francilene Silva
Elementos hemodinâmicos e de resposta inflamatória e seu papel prognóstico no contexto do tratamento cirúrgico em pacientes pediátricos com cardiopatia congênita e hipertensão pulmonar / Maria Francilene Silva Souza. -- São Paulo, 2021.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Cardiologia.
Orientador: Antonio Augusto Barbosa Lopes.

Descritores: 1.Cardiopatias congênitas 2.Circulação pulmonar 3.Hipertensão pulmonar 4.Hemodinâmica pulmonar 5.Cirurgia torácica 6.Inflamação 7.Citocinas 8.Quimiocinas 9.Prognóstico

USP/FM/DBD-157/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

Ao meu filho, Mario, que veio ao mundo enquanto esta pesquisa se desenrolava e tornou a minha vida muito mais dinâmica, bonita e cheia de sentido. Esta conquista é para você!

Ao meu marido, Mario, meu companheiro de caminhada há 20 anos. Aquele que acreditou em mim mais do que eu mesma. Seu incentivo e apoio me fizeram chegar até aqui. Esse título também é seu meu amor!

Aos meus pais, Francisco e Nair, minha eterna gratidão por todos os esforços que fizeram em prol da minha educação. Obrigada pela confiança depositada em mim e pela liberdade em permitir que eu seguisse o meu caminho para realizar os meus sonhos. Acima de tudo, obrigada por todas as orações. Vocês são meus maiores exemplos de força e fé.

Aos meus irmãos, Paulo e Isaura, e às minhas sobrinhas, Iris e Lais, vocês são minha fonte de amor, aconchego e paz.

À minha grande família de tios e primos que me apoiaram em tantos momentos durante a minha formação profissional. Vocês são o meu porto seguro.

Aos meus sogros, Mirtes e Inácio, à minha cunhada Milena e à minha sobrinha Maria Luiza, minha gratidão por terem me socorrido em incontáveis momentos ao longo destes anos de estudo, cuidando com carinho do meu filho sempre que eu precisei de tempo para me debruçar sobre os manuscritos deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A **Deus,** primeiramente, por ter me permitido iniciar e terminar essa jornada. Em todos os momentos difíceis, foi em Suas mãos que me coloquei, e foi daí, que consegui força e inspiração para continuar.

Ao **meu orientador**, meu mestre, Professor Dr. Antonio Augusto Lopes, a quem eu devo cada linha escrita neste trabalho. Eu jamais terei palavras para agradecê-lo de forma adequada... foi tanto o que aprendi sobre pesquisa, ciência, estatística, cultura geral, português, inglês, escrever, apresentar, melhorar, aperfeiçoar, aprimorar... que é impossível descrever... Nestes anos de caminhada, o professor possibilitou que eu me transformasse em uma profissional mais competente e em uma pessoa melhor. Meu maior exemplo de competência, seriedade, dedicação e excelência. Sou eternamente grata por ser sua aluna.

Às minhas colegas do Grupo de Estudos em Hipertensão Pulmonar:

Dra. Nair Maeda, querida Naná, que dedicou o seu tempo não só à análise das citocinas deste estudo, mas participou ativamente da minha formação. E, acima de tudo, tornou-se para mim uma grande amiga. Naná, admiro imensamente sua dedicação, entusiasmo e competência.

Dra. Ana Maria Thomaz, cardiopediatra, que colaborou em todas as fases deste trabalho, desde a seleção dos pacientes até a alta hospitalar. Sem sua valiosa colaboração jamais teríamos conseguido realizar essa pesquisa.

Dra. Claudia Castro, que realizou as avaliações ecocardigráficas dos pacientes, não medindo esforços para conseguir mensurar as variáveis necessárias.

Dra. Leina Zorzanelli, a precursora do estudo das respostas inflamatórias em pacientes pediátricos com cardiopatias congênitas, podemos dizer que este estudo é uma continuação da sua tese.

Enfermeira Eloisa Sassa, minha grande amiga e fiel companheira desde os primeiros momentos deste estudo. Obrigada por ter aceitado o desafio de colaborar com o grupo quando tudo isso era apenas uma ideia. Obrigada por toda a sua dedicação e amizade.

Fisioterapeuta Kelly Abbud, que encantada e intrigada com os nossos pacientes no período pós-operatório, veio contribuir com o nosso trabalho.

Fisioterapeuta Luiza Manoel e a Biomédica Mariana Clavé, que me acolheram no grupo de pesquisa e me ajudaram em tantos momentos, inclusive durante a minha licença maternidade, me substituindo nas atividades necessárias.

Sra. Roseli Polo, a pessoa dos bastidores, aquela que cuida com toda competência os aspectos regulatórios, dos documentos mais importantes, dos por menores que não conseguimos enxergar. Sem tal ajuda, esta pesquisa não seria possível. Obrigada por todo apoio e toda paciência comigo durante esta jornada.

Vitória Pelicho, jovem integrante do Grupo de Hipertensão Pulmonar, que tantas vezes nos ajudou nos encaminhamentos e no laboratório.

À Enfermeira Janete Hironaka, minha grande amiga e quem me indicou para este grupo de estudos. Obrigada Jan! Sem aquela nossa *conversinha*, naquele almoço há alguns anos, hoje eu provavelmente não estaria concluindo esta etapa.

À Coordenação de Enfermagem do InCor:

À Diretora da Divisão de Enfermagem do InCor, Dra. Jurema da Silva Herbas Palomo e à Diretora do Serviço de Educação Fatima Gil Ferreira, pelo exemplo de força, determinação, competência e amor pelo InCor. Obrigada, acima de tudo, por terem tornado possível a realização desta tese ao apoiarem minha mudança de setor e ajustes nos meus horários de trabalho.

À toda equipe da Coordenação de Enfermagem e às minhas colegas do Serviço de Educação, pelo apoio e incentivo nestes quatro anos de estudo.

Aos integrantes da Unidade de Cirurgia Cardiovascular Pediatrica, Prof. Dr. Marcelo Jatene**,** Profa. Dra. Carla Tanamati, Dr. Luiz Fernando Caneo, Dra. Raquel Massoti , Dr. Leonardo Miana e, em especial, ao Dr. Juliano Penha, pela competência com que operaram nossos pacientes e registraram os dados necessários para o estudo.

À toda equipe multiprofissional da Unidade Clínica de Cardiologia Pediátrica e Cardiopatia Congênita do Adulto, setor em que trabalhei por pouco mais de 11 anos, e onde me encontrava quando esta pesquisa foi iniciada. Sou grata a cada um de vocês com quem convivi ao longo desta experiência. Médicos, residentes, meus colegas enfermeiros, técnicos e auxiliares de enfermagem, fisioterapeutas, nutricionistas, assistentes sociais e psicólogos. Gostaria de agradecê-los, primeiro, por terem cuidado com carinho e competência dos pacientes deste estudo. Segundo, por terem sido companheiros, apoiadores e incentivadores da minha caminhada.

À equipe multiprofissional da UTI Cirúrgica I:
À Profa. Dra. Filomena Galas, coordenadora da unidade no período em que os dados foram coletados, à Dra. Vanessa Guimarães, médica assistente, pela atenção dispensada ao nosso protocolo e pela competência com que conduziram os casos.

Aos profissionais atuantes na UTI Cirúrgica I durante o período do estudo. Minha gratidão especial a cada médico, residente, fisioterapeuta e equipe de enfermagem pela competência com que assistiram os pacientes na fase mais crítica desta pesquisa.

Aos membros da Secretaria de Pós-Graduação em Cardiologia, Serviço de Biblioteca, Documentação Científica e Material Didático e à **Comissão Científica do Instituto do Coração** pelo apoio e incentivo acadêmico.

Gostaria de externar minha homenagem e respeito a cada um dos **pacientes e seus familiares** que aceitaram participar desta pesquisa. Minha eterna gratidão! Nosso objetivo final sempre foi encontrar a melhor forma de cuidar da saúde de vocês.

Às **mães e aos bebês que fizeram parte deste estudo como *controles***. Muitas dessas crianças são filhos de amigas, que aceitaram participar da pesquisa para contribuir com a ciência.

Enfim, minha gratidão a cada pessoa que cruzou o meu caminho e contribuiu para que eu pudesse chegar até aqui.

“Por isso não tema, pois estou com você;
não tenha medo, pois sou o seu Deus.
Eu o fortalecerei e o ajudarei;
eu o segurarei com a minha mão direita vitoriosa.”

Isaias 41:10

Normatização adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento de sua publicação:

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviatura dos títulos e periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Referências: Para elaboração das referências foi usada a ferramenta *EndNote Web* no estilo *Vancouver.*

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS
LISTA DE FIGURAS
LISTA DE QUADROS
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS
LISTA DE SÍMBOLOS E MEDIDAS
RESUMO
ABSTRACT

1. **INTRODUÇÃO** 1
1.1 Avaliação pré-operatória e valores de referência para pressão arterial e resistência vascular pulmonar 2
1.2 Remodelamento vascular pulmonar 7
1.3 Elementos inflamatórios no remodelamento e na resposta vascular pulmonar 10
1.4. Fatores de risco para instabilidade hemodinâmica pulmonar e sistêmica no período pós-operatório 13
1.4.1 Fatores de risco presentes antes do tratamento cirúrgico 13
1.4.2 Fatores de risco intra-operatórios: circulação extracorpórea e resposta inflamatória 16
1.4.3 Fatores de risco e fatores desencadeantes de instabilidade após a cirurgia 17
1.5 Comportamento hemodinâmico no período pós-operatório 18
1.6 Crise de hipertensão pulmonar 20
1.7 Pressupostos e justificativa 23
2. **OBJETIVO** 25
2.1 Desfechos 26
2.2 Metas 26
3. **MÉTODOS** 28
3.1 Tipo de estudo 29
3.2 Casuística 29
3.3 Critérios de inclusão 30
3.4 Critérios de exclusão 30
3.5 Dados demográficos e clínicos do período pré-operatório 31
3.6 Dados ecocardiográficos 31

3.7 Rotinas de atendimento dos pacientes pediátricos portadores de cardiopatia congênita com hipertensão pulmonar operados na Instituição 33
3.7.1 Anestesia e monitorização durante o ato cirúrgico 33
3.7.2 Circulação extracorpórea 34
3.7.3 Sedação e ventilação no período pós-operatório 35
3.8 Registros intra-operatórios 36
3.9 Registros no período pós-operatório 37
3.10 Caracterização dos desfechos 38
3.10.1 Comportamento hipertensivo em nível de circulação pulmonar no período pós-operatório sob cuidados intensivos 38
3.10.2 Ocorrência de eventos clínicos pré-definidos no período pós-operatório 39
3.10.3 Persistência de pressão arterial pulmonar alterada (elevada) seis meses após o tratamento cirúrgico 40
3.11 Dados laboratoriais 41
3.11.1 Coleta de material e estocagem 41
3.11.2 Mediadores de inflamação 42
3.11.3 Precauções de ordem técnica 43
3.12 Procedimentos estatísticos 45
3.13 Resumo das etapas do estudo 46
4. **RESULTADOS** 47
4.1 Etapas na seleção de pacientes 48
4.2 Dados descritivos da amostra estudada 48
4.2.1 Características dos pacientes incluídos: elementos de gravidade 48
4.2.2 Estado congestivo e comprometimento do desenvolvimento ponderal 51
4.2.3 Dados funcionais obtidos pela ecocardiografia transtorácica 53
4.2.4 Medidas hemodinâmicas invasivas 54
4.2.5 Dados hematológicos de rotina pré-operatória 55
4.2.6 Procedimentos e registros durante o ato operatório 56
4.2.7 Aspectos evolutivos do período pós-operatório 59
4.2.8 Dados hematológicos e de microcirculação do período pós-operatório inicial 61
4.3 Análise inferencial 63
4.3.1 Situação hemodinâmica imediatamente após a cirurgia 63
4.3.2 Evolução hemodinâmica e oximétrica nos grupos considerados 66

4.3.3 Aspectos da resposta inflamatória..... 68
4.3.3.1 Evolução dos dados hematológicos comparativamente nos momentos pré e pós-operatório..... 68
4.3.3.2 Marcadores inflamatórios e comportamento hemodinâmico..... 69
4.3.4 Associação das variáveis com os Eventos Cardiorrespiratórios e Hemodinâmicos Relevantes (ECRHR)..... 73
4.3.5 Avaliação ecocardiográfica no final do período de cuidados intensivos e intermediários 74
4.3.6 Situação hemodinâmica seis meses após o tratamento cirúrgico 76
5. **DISCUSSÃO** 80
6. **CONCLUSÕES** 88
7. **POSSÍVEIS IMPLICAÇÕES**..... 90
8. **ANEXOS**..... 92
Anexo A..... 93
Anexo B..... 96
Anexo C..... 99
Anexo D..... 100
Anexo E..... 102
9. **REFERÊNCIAS** 103
10. **APÊNDICE**
Apêndice A

LISTAS

TABELAS

Tabela 1	Definições hemodinâmicas de hipertensão pulmonar	4
Tabela 2	Dados antropométricos, demográficos e diagnósticos	50
Tabela 3	Dados ecocardiográficos do período pré-operatório	55
Tabela 4	Dados hematológicos do período pré-operatório	56
Tabela 5	Dados do período pós-operatório	60
Tabela 6	Dados hematológicos de conotação inflamatória, variáveis relacionadas à microcirculação e escore de drogas vasoativas no período pós-operatório inicial	62
Tabela 7	Dados hematológicos do período pré e pós-operatório	68
Tabela 8	Valores pré-operatórios das proteínas inflamatórias	69
Tabela 9	Marcadores inflamatórios nos grupos hemodinamicamente definidos nos três momentos estudados	71
Tabela 10	Variáveis com potencial impacto na ocorrência dos ECRHR	74
Tabela 11	Dados ecocardiográficos relacionados ao ventrículo direito analisados comparativamente em dois momentos	76

FIGURAS

Figura 1	Aspectos da avaliação pré-operatória de pacientes com cardiopatia congênita e hipertensão pulmonar	6
Figura 2	Imagens das alterações vasculares pulmonares publicadas por Heath e Edwards	8
Figura 3	Exemplo de situação pós-operatória caracterizada como instabilidade grave	10
Figura 4	Análise anatomopatológica demonstrando vasculopatia pulmonar avançada	14
Figura 5	*Dot blot* mostrando alguns dos marcadores inflamatórios investigados no estudo	42
Figura 6	Exemplo representativo da análise de marcadores (proteínas) solúveis	44
Figura 7	Esquema representativo das etapas consideradas no estudo	46
Figura 8	Etapas na seleção e situações de não inclusão de pacientes no período de novembro de 2016 a novembro de 2018	49

Figura 9 Gráficos representativos do peso em relação à idade demonstrando situações de deficit ponderal 52

Figura 10 Radiogramas de tórax representando dinâmicas cardiopulmonares distintas 53

Figura 11 Pressão média arterial pulmonar e sistêmica imediatamente antes e após a circulação extracorpórea 58

Figura 12 Relação entre situações hemodinâmicas em diferentes momentos . 64

Figura 13 Razão entre a pressão média arterial pulmonar e pressão média arterial sistêmica na predição de *Eventos Cardiorrespiratórios e Hemodinâmicos Relevantes* 65

Figura 14 Evolução hemodinâmica e oximétrica nos grupos caracterizados de acordo com a PMAP/$PMAS_{POI}$..... 67

Figura 15 Marcadores inflamatórios nos grupos, definidos sob aspectos hemodinâmicos analisados em três momentos 72

Figura 16 PMAP/$PMAS_{POI}$ e PMAP/$PMAS_{CC}$ na predição da persistência de pressão sistólica arterial pulmonar > 30 mmHg 78

Figura 17 Comportamento hemodinâmico no período pós-operatório) e seis meses após o tratamento cirúrgico 79

QUADROS

Quadro 1 Critérios para definição de crise de hipertensão pulmonar..... 21

Quadro 2 Quadro indicativo das proteínas investigadas no presente estudo ... 43

ABREVIATURAS E SIGLAS GERAIS

CEC	Circulação extracorpórea
CIA	Comunicação interatrial
CIV	Comunicação interventricular
DSAV	Defeito do septo atrioventricular
ECMO	*Extracorporeal membrane oxygenation*
ECRHR	Evento Cardiorrespiratório e Hemodinâmico Relevante
FAC	*Fractional area change*
IPM	Índice de *performance* miocárdica
IRVP	Índice de resistência vascular pulmonar
PAP	Pressão arterial pulmonar
PMAP/PMAS	Razão entre a pressão média arterial pulmonar e a sistêmica
$PMAP/PMAS_{CC}$	Razão entre a pressão média arterial pulmonar e a sistêmica, verificadas no centro cirúrgico, durante o ato operatório
$PMAP/PMAS_{POI}$	Razão entre a pressão média arterial pulmonar e a sistêmica, no início do período pós-operatório
PCA	Persistência do canal arterial
PCR	Proteína C Reativa
PMAP	Pressão média da artéria pulmonar
PMAS	Pressão média arterial sistêmica
VPM	Volume plaquetário médio
PSVD	Pressão sistólica em ventrículo direito
Qp/Qs	Razão entre o fluxo sanguíneo pulmonar e sistêmico
RNL	Razão entre número de neutrófilos e linfócitos em circulação
RVP	Resistência vascular pulmonar
RVP/RVS	Razão entre resistência vascular pulmonar e resistência vascular sistêmica
Strain	Variável relacionada à deformidade do miocárdio e contratilidade; função sistólica regional e global de ambos os ventrículos
Sat. O_2	Saturação periférica de oxigênio
VIS	*Vasoactive Inotropic Score*
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
TAPSE	Excursão sistólica do anel tricuspídeo
VTI_{VP}	Integral velocidade-tempo em veia pulmonar

ABREVIATURAS E SIGLAS REFERENTES AOS MEDIADORES INFLAMATÓRIOS

C5	*Complement component 5*
C5a	*Complement component C5 activated*
G-CSF	*Granulocyte-colony stimulating factor*
GM-CSF	*Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* GROα *Growth-regulated oncogene alpha*
I-309	*Chemokine I-309*
IFN-γ	*Interferon-gamma*
IL-10	Interleucina 10
IL-12	Interleucina 2
IL-13	Interleucina 13
IL-16	Interleucina16
IL-17	Interleucina 17
IL-17E	Interleucina 17E
IL-1RA	Antagonista do receptor de interleucina 1
IL-1α	Interleucina 1 alfa
IL-1β	Interleucina 1 beta
IL-2	Interleucina 2
IL-21	Interleucina 21
IL-27	Interleucina 27
IL-32α	Interleucina 32 alfa
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-18	Interleucina 18
IP-10	*Interferon gamma-induced protein 10*
I-TAC	*Interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant*
MCP-1	*Monocyte chemoattractant protein-1*
MIF	*Macrophage migration inhibitory factor*
MIP-1α	*Macrophage inflammatory protein 1 alpha*
MIP-1β	*Macrophage inflammatory protein 1 beta*
PAI-1	*Plasminogen activator inhibitor-1*

RANTES	*Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted*
CD40L	*CD40 ligand*
SDF-1	*Stromal cell-derived factor 1*
Serpin E1	*Serine protease inhibitor E1*
sICAM-1	*Soluble intercellular adhesion molecule-1*
sTREM	*Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells*
TNF-α	*Tumor necrosis factor-alpha*

SÍMBOLOS E MEDIDAS

cm	Centímetro
^{o}C	Graus Celsius
%	Porcentagem
>	Maior
≥	Maior ou igual
<	Menor
≤	Menor ou igual
g	Unidade gravitacional
kg	Quilograma
k/µL	x 1000 por microlitro
µg/kg/min	Microgramas por quilograma por minuto
µg/kg/h	Microgramas por quilograma por hora
mL/kg	Mililitro por quilograma
mmHg	Milímetros de mercúrio
mL	Mililitro
ppm	Parte por milhão
U x m^2	Unidades Wood vezes metro quadrado

RESUMO

Souza MFS. *Elementos hemodinâmicos e de resposta inflamatória e seu papel prognóstico no contexto do tratamento cirúrgico em pacientes pediátricos com cardiopatia congênita e hipertensão pulmonar* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

Alterações estruturais e funcionais estão presentes na circulação pulmonar em pacientes com comunicações cardíacas congênitas. A inflamação tem um papel primordial no remodelamento vascular pulmonar que acompanha esta condição. Todo este processo tem implicação na indicação cirúrgica e no padrão hemodinâmico pulmonar no período pós-operatório imediato e tardio. Informações sobre a relação entre hemodinâmica pulmonar pós-operatória, inflamação e desfechos de curto, médio e longo prazo, em pacientes pediátricos submetidos a cirurgia, são escassas. Desta forma, este estudo teve por objetivo investigar em pacientes pediátricos, no contexto do tratamento cirúrgico, possíveis relações entre hemodinâmica pulmonar, elementos de resposta inflamatória e eventos clínicos no período pós-operatório. Além disso, identificar possíveis preditores de pressão arterial pulmonar persistentemente alterada após a alta hospitalar. **MÉTODOS**: Estudo do tipo prospectivo, de coorte, com observações de caráter longitudinal, envolvendo a comparação entre grupos hemodinâmicos. A coleta de dados ocorreu entre os anos de 2016 e 2018. O protocolo do estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq 4324/15/151) e teve o suporte financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – Processo nº 2016/21587-5). Foram incluídas 40 crianças. A idade variou entre quatro e 35 meses (mediana de 11 meses), sendo 63% com síndrome de Down, todas submetidas ao tratamento cirúrgico de correção do defeito do septo átrio ventricular (60%) ou comunicação interventricular (40%). A coleta dos dados clínicos, cirúrgicos, laboratoriais e hemodinâmicos ocorreu durante o período de internação. A ecocardiografia transtorácica foi realizada seis meses após a correção cirúrgica para determinação não invasiva da pressão arterial pulmonar. A resposta inflamatória foi avaliada pela análise de 36 marcadores séricos específicos, na condição basal, quatro e 24 horas após o término da circulação extracorpórea, além de elementos celulares e humorais pesquisados habitualmente na rotina assistencial. No período pós-operatório, os pacientes ficaram monitorizados com cateter em artéria pulmonar e pressão arterial sistêmica invasiva por 72 horas. A razão entre as pressões médias arteriais pulmonar e sistêmica foi mensurada no período pós-operatório e a média dos quatro primeiros valores ($PMAP/PMAS_{POI}$) com medidas obtidas a cada duas horas na unidade de cuidados intensivos, foi usada para categorizar os pacientes em dois grupos: $PMAP/PMAS_{POI} \leq 0,40$ (22 pacientes) e $PMAP/PMAS_{POI} > 0,40$ (18 pacientes). Eventos Cardiorrespiratórios e Hemodinâmicos Relevantes (ECRHR) foram definidos antes do início do projeto como uma conjunção de alterações cardiocirculatórias e respiratórias importantes que tivessem início com o aumento da pressão pulmonar. **RESULTADOS**: A situação hemodinâmica pulmonar observada nas primeiras seis horas após a cirurgia ($PMAP/PMAS_{POI}$) correlacionou com os dados obtidos no centro cirúrgico ($p<0,001$) e antecipou a curva pressórica registrada nos 2,5 dias subsequentes ($p<0,001$). Na

comparação entre grupos, cinco marcadores inflamatórios se mostraram elevados no grupo $PMAP/PMAS_{POI}$ > 0,40 comparativamente ao grupo $PMAP/PMAS_{POI} \leq 0,40$: G-CSF (p=0,040), IL1-RA (p = 0,020), IL-6 (p=0,003), IL-21(p=0,047) e volume plaquetário médio (p=0,018). A condição $PMAP/PMAS_{POI} > 0,40$ e o nível sérico elevado da proteína MIF no período pós-operatório imediato mostraram-se preditores de ECRHR (*hazard ratio* e IC 95%, respectivamente, 5,07 (1,10 - 23,45), p=0,038, e 3,29 (1,38 – 7,88), p<0,001). Os ECRHR ocorreram em 27,5% dos pacientes e influenciaram o tempo de ventilação mecânica (p<0,001). A condição $PMAP/PMAS_{POI} > 0,40$ foi preditora de pressão sistólica arterial pulmonar elevada (> 30 mmHg, pela ecocardiografia) seis meses após a cirurgia (*hazard ratio* 7,50 (1,72 – 32,80), p=0,007). **CONCLUSÕES**: O padrão de comportamento hemodinâmico pulmonar foi identificado no início do período pós-operatório e correlacionou-se com parâmetros hemodinâmicos do centro cirúrgico ao final da circulação extracorpórea. $PMAP/PMAS_{POI} > 0,40$ correlacionou-se com níveis circulantes de marcadores inflamatórios mensurados tanto no período pré como no pós-operatório imediato: IL-6, IL1-RA, G-CSF, IL-21 e volume plaquetário médio. O comportamento hemodinâmico inicial e o nível da proteína MIF na quarta hora correlacionam-se com Eventos Cardiorrespiratórios Hemodinâmicos Relevantes. A evolução da pressão arterial pulmonar seis meses após o tratamento cirúrgico pode ser prevista a partir do comportamento hemodinâmico pulmonar no período pós-operatório imediato.

Descritores: Cardiopatias congênitas; Circulação pulmonar; Hipertensão pulmonar; Hemodinâmica Pulmonar; Cirurgia torácica; Inflamação; Citocinas; Quimiocinas; Prognóstico.

ABSTRACT

Souza MFS. *Hemodynamic and inflammatory response elements and their prognostic role in the context of surgical treatment in pediatric patients with congenital heart disease and pulmonary hypertension* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2021.

Structural and functional changes are present in the pulmonary circulation in patients with congenital cardiac communications. Inflammation, which comes alongside with this condition, plays a major role in pulmonary vascular remodeling. This process has implications for the surgical indication and for the pulmonary hemodynamic performance, both in the immediate and late postoperative period. There is currently little information on the correlation among postoperative pulmonary hemodynamics, inflammation, and outcomes in pediatric patients undergoing surgery. Thus, this study aimed at investigating relationships among pulmonary hemodynamics, elements of inflammatory response, and clinical events in the postoperative period in pediatric patients undergoing surgical treatment. Furthermore, this study also aimed at identifying possible predictors of late persistent changes in pulmonary arterial pressure after hospital discharge. **METHODS**: Prospective, cohort study with longitudinal observations involving comparison between hemodynamic groups. Data were collected from November 2016 to October 2018. The study protocol was approved by the Ethics Committee for Analysis of Research Projects (CAPPesq 4324/15/151) with the financial support of the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP - Process nº 2016 / 21587-5). Forty children were included. The age ranged from four to 35 months (median 11 months), 63% of whom had Down syndrome. They underwent surgical treatment to correct either the atrioventricular septal defect (60%) or the ventricular septal defect (40%). The collection of clinical, surgical, laboratory, and hemodynamic data occurred during the hospitalization period. Transthoracic echocardiography was performed six months after surgical correction for noninvasive determination of pulmonary arterial pressure. The inflammatory response was assessed at baseline (before surgical procedure) and 4 hours and 24 hours after the end of cardiopulmonary bypass - by the analysis of 36 specific serum markers. In addition, cellular and humoral elements were also investigated as part of the hospital routine. Postoperatively, pulmonary and systemic pressure were monitored with invasive indwelling catheters for 72 hours. The pulmonary/systemic mean arterial pressure ratio was also obtained. The mean of the first four values ($PMAP/PMAS_{POI}$), with measurements obtained every two hours in the ICU, was used to categorize the patients into two groups: $PMAP/PMAS_{POI} \leq 0.40$ (22 patients) and $PMAP/PMAS_{POI} > 0.40$ (18 patients). The relevant cardiorespiratory and hemodynamic events were defined prior to the study as a composite of major cardiocirculatory and respiratory disturbances. **RESULTS**: The pulmonary hemodynamic performance observed in the first six hours after surgery ($PMAP/PMAS_{POI}$) was correlated with data obtained in the operating room ($p < 0.001$) and anticipated the pressure curve recorded in the 2.5 days ($p < 0.001$). As for the comparison between hemodynamic groups, it was observed that five inflammatory markers were shown to be elevated in patients with $PMAP/PMAS_{POI} > 0.40$: G-CSF ($p=0.040$), IL1-RA ($p=0.020$), IL-6 ($p=0.003$), IL-21 ($p=0.047$) and mean platelet volume ($p=0.018$). The $PMAP/PMAS_{POI} > 0.40$

condition and the elevated serum level of the MIF protein in the immediate postoperative period were shown as predictors of relevant cardiorespiratory and hemodynamic events (hazard ratio with 95% CI, respectively, 5.07 (1.10 - 23.45), p=0.038, and 3.29 (1.38 - 7.88), p < 0.001). Besides, relevant cardiorespiratory and hemodynamic events influenced the time of mechanical ventilation (p < 0.001). The $PMAP/PMAS_{POI} > 0.40$ was a predictor of elevated pulmonary arterial systolic pressure (> 30 mmHg, by echocardiography) six months after surgery (hazard ratio 7.50 (1.72 - 32.80), p=0.007). **CONCLUSIONS**: The pattern of pulmonary hemodynamic performance was identified at the beginning of the postoperative period and correlated with hemodynamic parameters in the operating room at the end of cardiopulmonary bypass. $PMAP/PMAS_{POI} > 0.40$ was correlated with circulating levels of inflammatory markers measured both before surgery and in the immediate postoperative period as IL-6, IL1-RA, G-CSF, IL-21, and mean platelet volume. The initial postoperative hemodynamic performance and the level of the MIF protein four hours postoperatively were correlated with relevant hemodynamic and cardiorespiratory events. The evolution of pulmonary arterial pressure six months after surgery can be predicted by taking into consideration the pulmonary hemodynamic performance in the immediate postoperative period.

Descriptors: Heart defects, congenital; Pulmonary circulation; Hypertension, pulmonary; Pulmonary Hemodynamic; Thoracic surgery; Inflammation; Cytokines; Chemokines; Prognosis.

1. INTRODUÇÃO

Alterações estruturais e funcionais estão presentes na circulação pulmonar em pacientes com comunicações congênitas entre câmaras cardíacas e entre grandes artérias. Na faixa etária pediátrica, estas alterações são críticas, pois terão influência sobre o planejamento e sobre os resultados do tratamento corretivo da cardiopatia subjacente [1]. Na fase de investigação diagnóstica, as alterações estruturais e funcionais têm impacto na indicação de procedimentos corretivos, sendo que em alguns casos, dependendo do grau de evolução, pode haver dificuldade no encaminhamento para correção [1, 2]. No momento do tratamento, alguns pacientes submetidos à intervenção cirúrgica terão curso pós-operatório tormentoso com alterações hemodinâmicas e eventos clínicos relevantes [3]. Após a alta hospitalar, no seguimento a médio e longo prazo, determinados pacientes persistirão com pressão pulmonar elevada após ter sido corrigido o defeito cardíaco, seja de forma percutânea, seja por meio de cirurgia [4, 5].

1.1 Avaliação pré-operatória e valores de referência para pressão arterial e resistência vascular pulmonar

Os pacientes portadores de defeitos de septação cardíaca ou comunicações entre as grandes artérias, na ausência de lesões obstrutivas direitas, cursam com aumento da pressão em território pulmonar. A elevação da pressão arterial pulmonar depende tanto do aumento do fluxo sanguíneo como do aumento da resistência vascular. Nos pacientes considerados para o tratamento cirúrgico, toda estratégia de avaliação pré-operatória se baseia em

analisar a magnitude destes componentes. Clinicamente, o aumento do fluxo sanguíneo pulmonar se expressa por fenômenos congestivos, dispneia, insuficiência cardíaca e deficit de ganho ponderal. Pacientes apresentando estas características são encaminhados para o tratamento cirúrgico após cuidadosa avaliação diagnóstica não invasiva. Indivíduos com elementos clínicos sugestivos de aumento de resistência vascular pulmonar (ausência de insuficiência cardíaca, ausência de congestão e queda na saturação arterial periférica de oxigênio) necessitam ser encaminhados ao cateterismo cardíaco para realização de medidas hemodinâmicas e teste de vasorreatividade frente ao uso de vasodilatadores, antes da decisão cirúrgica [1, 6, 7].

Com relação às variáveis hemodinâmicas, os valores não são definidos especificamente para a população pediátrica. Até o presente momento, os comitês pediátricos tendem a seguir as mesmas definições estabelecidas para adultos, sendo a última atualização feita em 2018 [8, 9]. A condição de hipertensão pulmonar, assim como suas modalidades hemodinâmicas, é definida a partir do valor da pressão média arterial pulmonar, da pressão de encunhamento e do valor da resistência vascular. A Tabela 1 orienta o diagnóstico da hipertensão arterial pulmonar, também chamada pré-capilar, da hipertensão pulmonar pós-capilar e da hipertensão mista, pré e pós-capilar [8].

No contexto da indicação cirúrgica em pacientes com *shunts* cardíacos, alguns valores de variáveis hemodinâmicas têm sido considerados em consensos de especialistas, embora sem evidência baseada em estudos controlados.

Tabela 1 - Definições hemodinâmicas de hipertensão pulmonar [8]

Definições	Características
Hipertensão pulmonar pré-capilar	PMAP > 20 mmHg Pressão de encunhamento ≤ 15 mmHg RVP ≥ 3 WU x m^2
Hipertensão pulmonar pós-capilar isolada	PMAP > 20 mmHg Pressão de encunhamento > 15 mmHg RVP < 3 WU x m^2
Hipertensão pulmonar mista, pré e pós-capilar	PMAP > 20 mmHg Pressão de encunhamento > 15 mmHg RVP ≥ 3 WU x m^2

PMAP, pressão média arterial pulmonar; RVP, resistência vascular pulmonar; WU x m^2, unidades Wood por metro quadrado.

No contexto da indicação cirúrgica em pacientes com *shunts* cardíacos, alguns valores de variáveis hemodinâmicas têm sido considerados em consensos de especialistas, embora sem evidência baseada em estudos controlados. O algoritmo apresentado na Figura 1 resume a utilização destas variáveis. Para pacientes que requerem cateterismo cardíaco, níveis de resistência vascular pulmonar e razão entre as resistências vasculares pulmonar e sistêmica < 6 unidades Wood x m^2 (U x m^2) e < 0,3, respectivamente, são considerados pouco elevados e dificilmente constituirão obstáculo à correção da cardiopatia congênita. Níveis entre 6 e 8 - 9 U x m^2 e entre 0,3 e 0,5, respectivamente, são considerados moderadamente elevados. Acima destes, temos níveis mais preocupantes [1, 10].

Em crianças com cardiopatia congênita, o teste agudo de vasorreatividade pulmonar é realizado visando à obtenção de resposta em relação à resistência vascular pulmonar e à razão entre as resistências

vasculares pulmonar e sistêmica. O teste, em geral, é realizado com a utilização de óxido nítrico (20 a 80 partes por milhão) e/ou oxigênio (concentrações próximas a 100%), sendo considerado como resposta positiva, uma redução de pelo menos 20% nas duas variáveis citadas em relação aos valores basais. Em indivíduos com alterações hemodinâmicas consideradas acentuadas, mesmo na presença de um teste de vasorreatividade positivo, o encaminhamento imediato para tratamento cirúrgico pode não ser apropriado. Aqui também, mesmo na ausência de evidências baseadas em estudos controlados, uma possível alternativa seria a utilização de terapia vasodilatadora pulmonar por via oral, por dias ou semanas, com reavaliação hemodinâmica posterior para tomada de decisão [1, 7, 11, 12].

A preocupação com a hipertensão pulmonar nos pacientes submetidos à correção cirúrgica das anomalias cardíacas não finaliza na alta hospitalar. Estes pacientes necessitam reavaliação periódica posteriormente à cirurgia. Aqueles encaminhados para o cateterismo no período pré-operatório, provavelmente necessitarão medidas hemodinâmicas invasivas após o tratamento cirúrgico. Esta avaliação, em geral, se faz entre seis meses[12] e um ano após a alta hospitalar [13]. No entanto, a grande maioria dos pacientes que são operados com base na avaliação diagnóstica não invasiva é acompanhada por meio de determinações ecocardiográficas periódicas. Em tais avaliações, a pressão sistólica arterial pulmonar, idealmente, deve situar-se abaixo de 30 mmHg, sendo considerados preocupantes níveis superiores de 40 mmHg [14].

Avaliação clínica e hemodinâmica

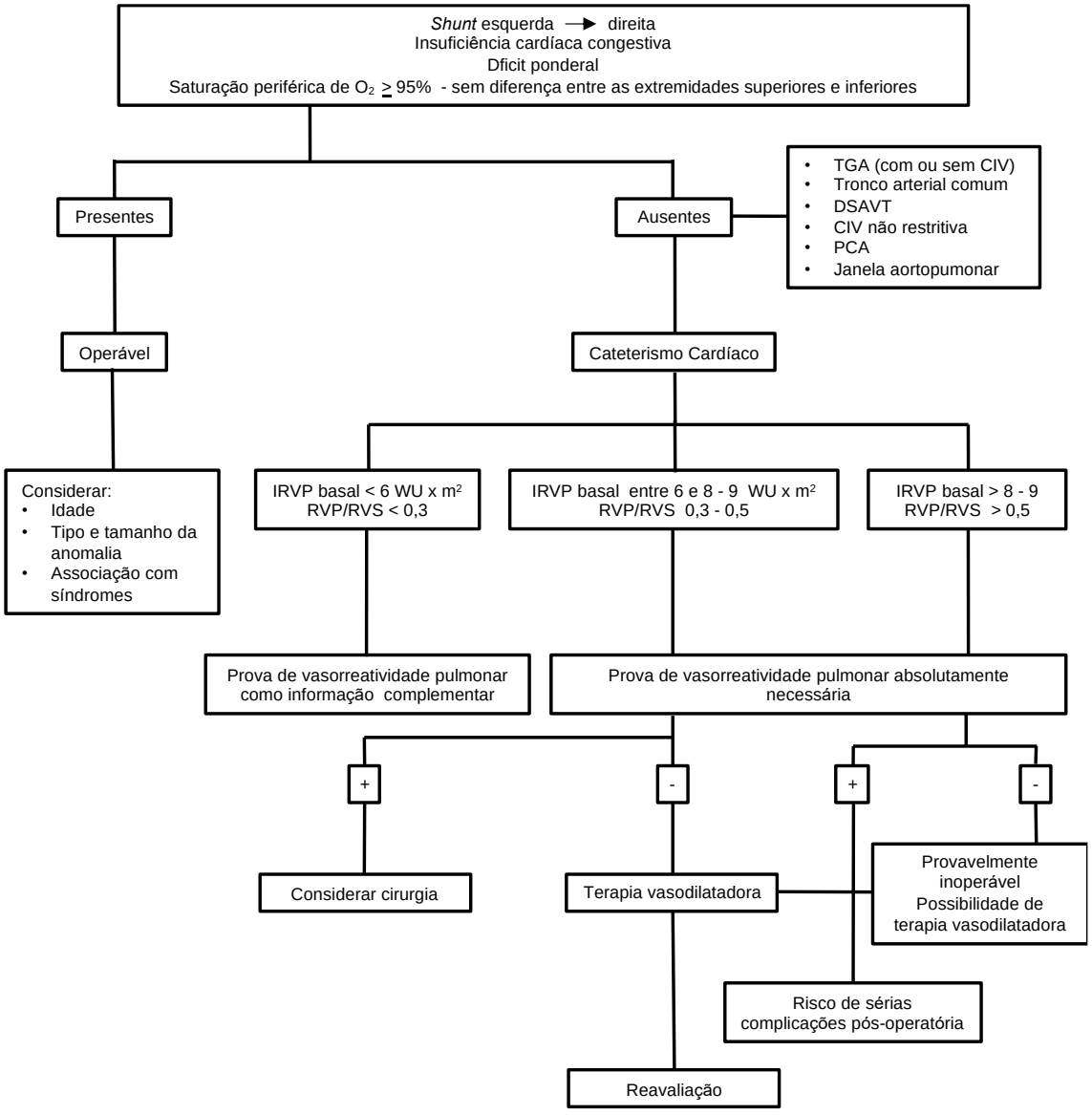


Figura 1 – Aspectos da avaliação pré-operatória de pacientes com cardiopatia congênita e hipertensão pulmonar. A prova de vasorreatividade pulmonar é considerada positiva quando na presença de oxido nítrico isolado e/ou oxigênio em altas concentrações ocorre queda de pelo menos 20% no índice de resistência vascular pulmonar e na razão entre as resistências vasculares pulmonar e sistêmica. CIV, comunicação interventricular; DSAVT, defeito do septo atrioventricular total; PCA, persistência do canal arterial; IRVP, índice de resistência vascular pulmonar; RVP/RVS, razão entre resistência vascular pulmonar e resistência vascular sistêmica. Esquema modificado a partir das referências [2, 6, 10].

1.2 Remodelamento vascular pulmonar

As alterações vasculares pulmonares associadas às cardiopatias congênitas têm sido estudadas sob o ponto de vista de biologia celular e molecular, com vários aspectos descritos de maneira pormenorizada. Os mecanismos celulares, sobretudo em músculo liso vascular, envolvem alterações no comportamento de canais iônicos, componentes mitocondriais, enzimas intra e extracelulares e fatores peptídicos de crescimento, além de uma enormidade de receptores e vias de sinalização. Todos estes mecanismos concorrem para a proliferação celular, inibição de apoptose e reorganização da matriz extracelular, resultando no remodelamento vascular pulmonar [15-18].

As alterações estruturais presentes nos vasos pulmonares foram bem caracterizadas por Heath e Edwards [19] no ano de 1958, compreendendo desde a hipertrofia da camada média das pequenas artérias e arteríolas até lesões oclusivas, dilatadas e outras mais avançadas. A classificação proposta por estes autores permanece como uma referência até os dias atuais e propõe seis níveis de lesões. O grau I refere-se à hipertrofia isolada da túnica média das pequenas artérias e arteríolas pulmonares; o grau II à proliferação fibro-intimal; o grau III à oclusão total do lumen; o grau IV às lesões plexiformes; o grau V às lesões angiomatoides com dilatação; e o grau VI à necrose fibrinoide da parede do vaso. A Figura 2 apresenta imagens segundo os graus das alterações vasculares considerados por Heath e Edwards [19].

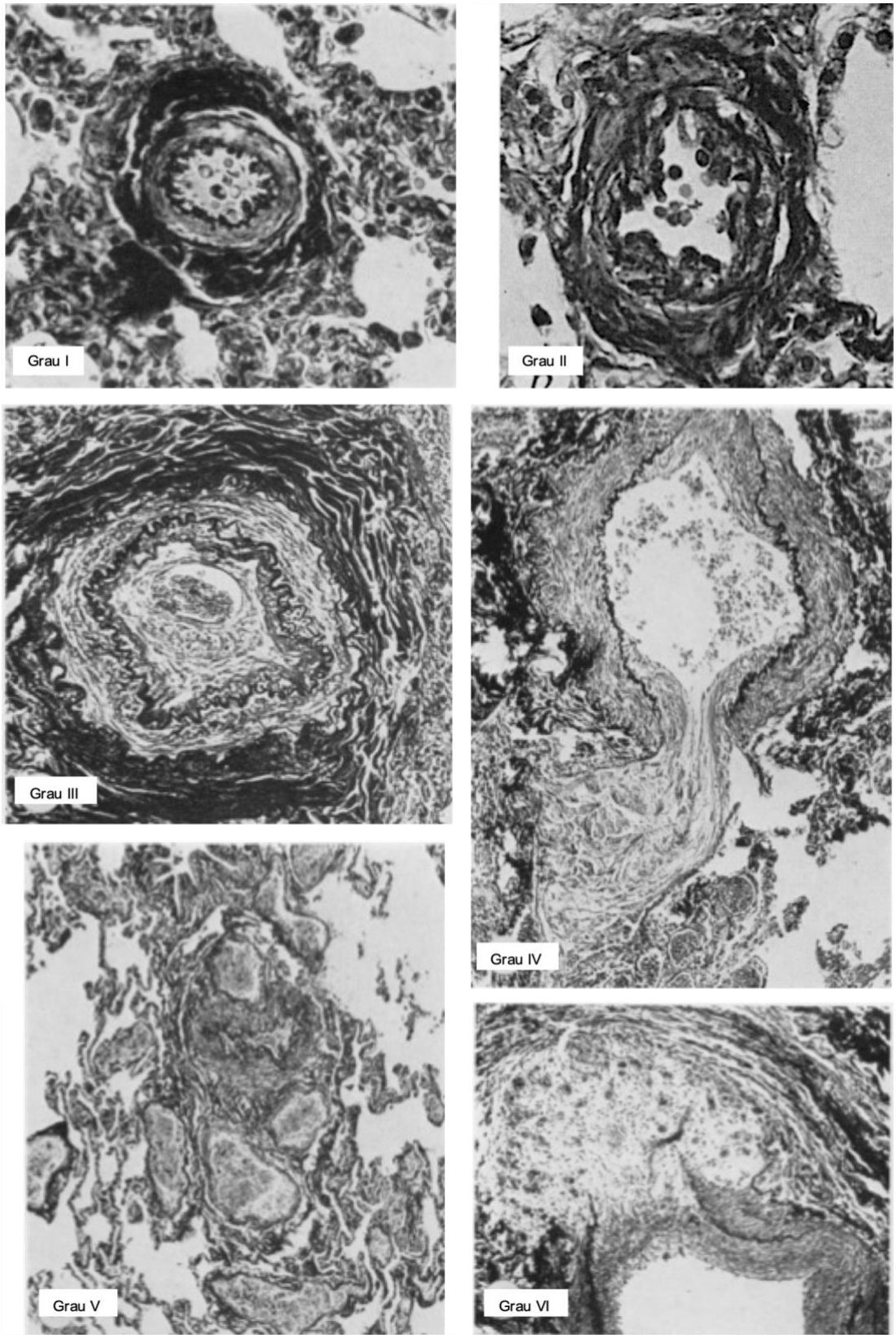


Figura 2 – Imagens das alterações vasculares pulmonares publicadas por Heath e Edwards em 1958. Grau I, acentuada hipertrofia da camada média arteriolar. Grau II, proliferação intimal. Grau III, hipertrofia da camada média e fibrose intimal. Grau IV, lesões plexiformes. Grau V, lesões com aspecto angiomatóide. Grau VI, presença de arterite necrotizante [19].

Alterações vasculares mais graves são relativamente infrequentes em crianças de baixa idade (semanas ou meses de vida), embora existam. No entanto, as alterações consideradas de menor gravidade (grau I - hipertrofia da camada média arterial), presentes com maior frequência, são as que podem trazer consequências danosas e desfechos desfavoráveis no período pós-operatório de correção das anomalias cardíacas. É, exatamente, a hipertrofia da camada média das pequenas artérias e arteríolas pulmonares que constitui a base estrutural para a vasoconstrição e aumento da pressão arterial pulmonar no período pós-operatório imediato e mediato [3, 20]. A Figura 3 corresponde a paciente de 8 meses, portador da síndrome da Down, submetido à correção cirúrgica do defeito do septo atrioventricular. A biópsia pulmonar intra-operatória revelou caracteristicamente hipertrofia da camada média arterial, além de outras lesões mais avançadas. Este paciente, após poucas horas do tratamento cirúrgico, evoluiu com aumento acentuado da pressão arterial pulmonar seguido de hipotensão sistêmica e hipoxemia. O quadro clínico persistiu, não havendo resposta ao tratamento inicial. O paciente entrou em colapso circulatório, sendo necessário uso de circulação assistida (*Extracorporeal Membrane Oxygenation* - ECMO) por vários dias. Após seis meses do tratamento cirúrgico e tendo sido mantido sob terapia vasodilatadora, a pressão arterial e a resistência vascular pulmonar atingiram níveis de normalidade.

Figura 3 – Exemplo de situação pós-operatória caracterizada como instabilidade grave. Hipertensão pulmonar acompanhada de hipotensão sistêmica e hipoxemia. Condição prolongada e não responsiva a medidas rotineiras (óxido nítrico inalado, incremento de sedação, correção de desvios metabólicos e ajuste de drogas vasoativas), requerendo uso de circulação assistida (ECMO).

1.3 Elementos inflamatórios no remodelamento e na resposta vascular pulmonar

O desenvolvimento e a evolução do remodelamento vascular que leva às alterações estruturais e funcionais dos vasos pulmonares estão intimamente

relacionados a processos inflamatórios. Estas alterações de natureza inflamatória são descritas em praticamente todas as formas de hipertensão pulmonar, inclusive naquela associada às cardiopatias congênitas [16, 21]. Embora lesões do tipo “arterite” sejam raras, a participação de células e mediadores inflamatórios interagindo com elementos da parede do vaso tem sido descrita tanto em modelos animais como na doença humana [17, 22, 23]. Na face luminal, as interações entre células endoteliais, leucócitos e plaquetas respondem pela liberação de citocinas, fatores de crescimento e mediadores de vasoconstrição [24]. Na camada adventícia, a presença de células inflamatórias costuma ser mais evidente, com implicação nos processos de apoptose e crescimento celular [25, 26]. Modificações na resposta imune têm sido observadas, com ênfase para citocinas do tipo T *helper* 2 (Th2) tanto em modelos experimentais como na condição humana [27-29]. Esta resposta tem sido associada à proliferação de células musculares lisas na vasculatura pulmonar [27].

Em estudos anteriores do nosso grupo, foi investigado o perfil pré-operatório de mediadores inflamatórios circulantes em lactentes e crianças de baixa idade (menos de três anos), em relação aos padrões hemodinâmicos de predomínio de fluxo *versus* aumento da resistência vascular pulmonar. Algumas citocinas e quimiocinas se comportam de forma diferencial. A concentração sérica da proteína MIF (*macrofaphage migration inhibitory factor*) é elevada em pacientes com predomínio da resistência vascular pulmonar, enquanto a quimiocina RANTES (*regulated on activation normal T cell expressed and secreted*) apresenta maiores níveis em pacientes com aumento do fluxo sanguíneo e fenômenos congestivos [24]. Além disso, há citocinas que aumentam concomitantemente com a idade (entendida como elemento de gravidade)

enquanto outras diminuem, comportamento não observado em controles pediátricos [29, 30]. A proteína MIF, relacionada entre outros aspectos à resposta T *helper* 2 (Th2), tem amplo efeito biológico em remodelamento vascular, notadamente nos pulmões, estando associada à proliferação de células musculares lisas vasculares e inibição de apoptose em células endoteliais [31, 32]. Em nosso grupo, identificamos associação entre níveis séricos pré-operatórios de proteína MIF, aumento de resistência vascular pulmonar, hipertrofia arteriolar em material de biópsia e variantes genéticas de uma enzima mitocondrial relacionada a biodisponibilidade de L-arginina (precursora do óxido nítrico) [33]. A relação entre as concentrações circulatórias das proteínas MIF e RANTES e padrões hemodinâmicos pulmonares foi por nós revista recentemente, com identificação de associação significante entre níveis pré-operatórios de MIF e elevação da pressão arterial pulmonar seis meses após o tratamento cirúrgico, sobretudo na síndrome de Down [34].

Estímulos pró-inflamatórios estão presentes em diferentes fases da doença em crianças com cardiopatias congênitas. Na fase pré-operatória (muitas vezes pré-diagnóstica), crianças com defeitos septais cardíacos que cursam com aumento de fluxo sanguíneo e congestão pulmonar são predispostas a infecções repetidas de vias aéreas, sobretudo por agentes virais [35, 36]. Existe, portanto, um microambiente de constantes insultos inflamatórios em vias aéreas que se torna indissociável do ambiente microvascular. As implicações desta proximidade de territórios e dos fenômenos biológicos decorrentes ainda são desconhecidas, embora o envolvimento de agentes virais na patogênese da hipertensão pulmonar seja cogitado na literatura [37-40]. Na fase perioperatória, acrescentam-se os fenômenos inflamatórios decorrentes do próprio ato cirúrgico e do uso de

circulação extracorpórea. Ressalte-se que mediadores inflamatórios, além de participar em processos de remodelamento, podem induzir vasoconstrição ou potencializar o efeito de agonistas [41]. O conhecimento destas manifestações inflamatórias torna-se crítico para o manejo pós-operatório, dadas as suas implicações em relação à instabilidade do tônus vascular pulmonar e sistêmico, necessidade de mais atenção aos pacientes sob risco e a possibilidade de desenvolvimento de estratégias terapêuticas específicas.

1.4 Fatores de risco para instabilidade hemodinâmica pulmonar e sistêmica no período pós-operatório

1.4.1 Fatores de risco presentes antes do tratamento cirúrgico

Os principais elementos considerados no período pré-operatório são a idade, fatores genéticos, presença da síndrome de Down e o tipo do defeito cardíaco. A idade é classicamente lembrada como um fator de risco para a persistência da hipertensão pulmonar após a correção do defeito cardíaco, sobretudo em pacientes operados após os dois anos [13]. No entanto, a literatura é escassa sobre a associação entre idade e complicações no período pós-operatório imediato e mediato. Em situações individuais, transtornos pós-operatórios graves podem ocorrer mesmo em crianças muito jovens. A Figura 4, demonstra a análise anatomopatológica de biópsia pulmonar de uma criança de 40 dias de vida que após a correção cirúrgica de coarctação da aorta evoluiu para óbito por hipertensão pulmonar. A investigação revelou alterações

vasculares pulmonares avançadas com presença de lesões plexiformes nodulares (grau IV).

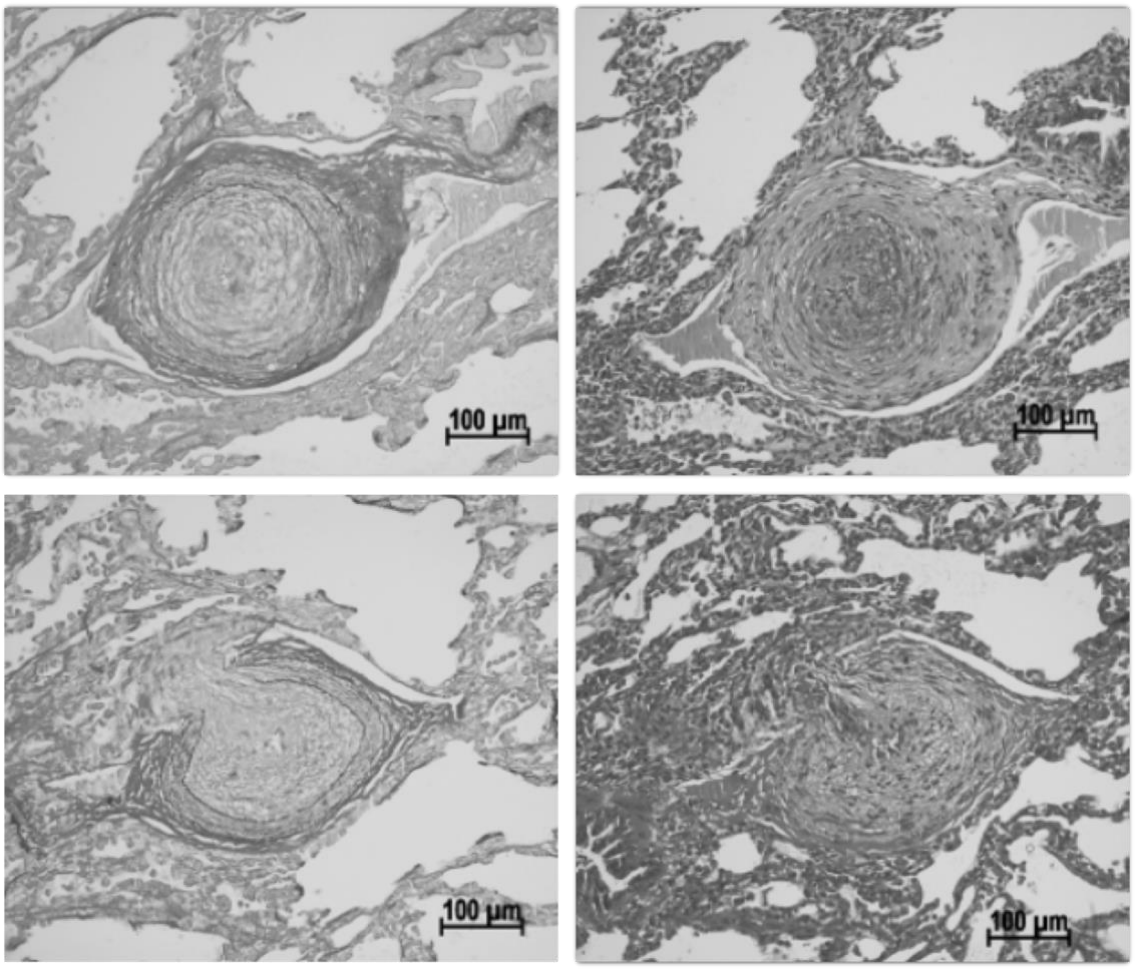


Figura 4 – Análise anatomopatológica demostrando vasculopatia pulmonar avançada com lesões plexiformes, grau IV na classificação qualitativa de Heath-Edwards, em criança de 40 dias de vida que foi a óbito por hipertensão pulmonar após cirurgia cardíaca. Painéis à esquerda, coloração pela elastina de Miller; painéis à direita, coloração por hematoxilina e eosina, com aumento de objetivas 20X. Cortesia, Professora Dra. Vera D. Aiello. Laboratório de Patologia do Instituto do Coração-HCFMUSP.

Em relação aos fatores genéticos, dois polimorfismos são conhecidos pela associação com instabilidade hemodinâmica pulmonar de crianças logo após a correção dos defeitos cardíacos congênitos. Um deles é o polimorfismo da enzima mitocondrial carbamil-fosfato sintetase I (CPSI T1405N) que se refere a transversão de nucleotídeo C-para-A no exon 36, resultando na substituição

de asparagina (Asn) por treonina (Thr) na posição 1405 [42]. Outro é o polimorfismo da enzima endotelial óxido nítrico sintetase, implicando também na troca de aminoácido (Glu298Asp) [43]. Estudos demostraram que crianças portadoras destas alterações apresentam maior probabilidade de desenvolver hipertensão pulmonar aguda pós-operatória. Os dados sugerem que estes polimorfismos poderiam ser usados como marcadores genéticos para predisposição à hipertensão arterial pulmonar no período pós-operatório imediato de correção dos defeitos cardíacos congênitos em pediatria [42, 43].

Quanto à presença da síndrome de Down, presume-se uma associação desta com a gravidade da vasculopatia pulmonar [44-46], e com a persistência da hipertensão pulmonar após a correção do defeito cardíaco congênito [47, 48]. A evolução da vasculopatia pode dificultar e em alguns casos, até mesmo contraindicar a cirurgia. Nos casos cirúrgicos, não existe uma demonstração clara de associação desta síndrome com os transtornos hemodinâmicos no período pós-operatório imediato, embora estudos demonstrem uma incidência maior da pressão arterial pulmonar elevada entre os pacientes sindrômicos [47, 49].

Finalmente, em relação ao tipo de defeito cardíaco, sabe-se que anomalias como a transposição das grandes artérias com comunicação interventricular, o tronco arterial comum, a janela aortopulmonar e todas as comunicações pós-tricuspídeas cujo diâmetro é maior que 50% do anel aórtico, quando não tratadas precocemente, costumam cursar com alterações vasculares graves [50, 51]. Sugere-se, portanto, associação destas anomalias com instabilidades hemodinâmicas que podem levar a dificuldades no manejo pós-operatório.

1.4.2 Fatores de risco intra-operatórios: circulação extracorpórea e resposta inflamatória

A maioria dos defeitos septais cardíacos são tratados cirurgicamente com o uso da circulação extracorpórea. Esta induz a uma reação inflamatória sistêmica intensa e extensa. A resposta inflamatória gerada pela circulação extracorpórea ocorre principalmente pela exposição do paciente a uma série de condições não fisiológicas. Dentre estas condições pode-se citar o contato do sangue com superfícies artificiais; a hipotermia; a parada circulatória; o fluxo não pulsátil; a isquemia seguida de reperfusão; a hemodiluição; a utilização de substâncias como heparina, protamina e hemoderivados [52, 53]. Todo este processo desencadeia mecanismos celulares e humorais, incluindo a ativação do complemento [54] , coagulação [55] e via da fibrinólise [55], além da expressão de uma gama de mediadores inflamatórios [56, 57]. Ocorre a ativação endotelial com expressão de moléculas de adesão [58] , recrutamento e ativação de leucócitos [59] e plaquetas [60], produção e liberação de citocinas [56, 57], radicais livres de oxigênio, derivados de ácido araquidônico, e outras substâncias vasoativas, além de enzimas proteolíticas [61]. Os eventos inflamatórios podem resultar em uma síndrome do extravasamento capilar com disfunção em múltiplos órgãos [52, 53, 62].

Crianças são mais susceptíveis à resposta inflamatória após a circulação extracorpórea. Esta observação pode ser explicada pelas altas demandas metabólicas, vasculatura pulmonar reativa, sistemas orgânicos imaturos com homeostase alterada e discrepância entre o tamanho do circuito da circulação extracorpórea e tamanho do paciente. Assim, a combinação de um circuito de circulação extracorpórea grande e o aumento dos fluxos necessários para suprir

a demanda metabólica, resulta em maior exposição do sangue à superfície do circuito e consequentemente maior liberação de mediadores inflamatórios [52, 53, 63]. Estudos investigando mediadores inflamatórios em pacientes pediátricos após a circulação extracorpórea, demonstraram que a interleucina 6 (IL-6), a interleucina 8 (IL-8), a interleucina 10 (IL-10) e o fator de necrose tumoral (TNF), quando aumentados estão relacionados a piores desfechos clínicos como maior tempo sob ventilação mecânica, maior tempo de internação em unidade de terapia intensiva e injúria renal [64, 65]. Há diversos estudos sobre o aumento de permeabilidade capilar, dano tecidual e lesão de múltiplos órgãos relacionados à reação inflamatória após a circulação extracorpórea [62, 66-68]. Entretanto, a literatura é escassa em relação ao comportamento da circulação pulmonar frente a esta resposta, principalmente na população pediátrica.

1.4.3 Fatores de risco e fatores desencadeantes de instabilidade após a cirurgia

Logo após a operação cardíaca, vários fatores podem desencadear ou contribuir para a instabilidade hemodinâmica pulmonar e sistêmica. Um destes fatores é a disfunção das células endoteliais, em muitos casos já presentes no período pré-operatório e exacerbada pela reação inflamatória após a circulação extracorpórea [69-71]. A disfunção endotelial pode ocasionar instabilidade hemodinâmica devido ao desequilíbrio entre a produção de substâncias vasoconstritoras e vasodilatadoras. O comprometimento da função endotelial

acarreta deficiência na síntese de óxido nítrico e prostaciclinas e produção aumentada de endotelina e tromboxane [72-74].

A disfunção cardíaca pré-operatória (notadamente do ventrículo direito) e eventuais alterações anatômicas residuais, são fatores que contribuem para a instabilidade pós-operatória [75-77]. Acredita-se que as intercorrências hemodinâmicas no período pós-operatório aconteçam não apenas pela elevação da pressão pulmonar, mas quando os mecanismos compensatórios cardíacos falham frente a um aumento repentino [78-80].

Algumas situações são específicas do período pós-operatório e podem ser consideradas como verdadeiros “gatilhos”, capazes de desencadear elevações súbitas da pressão pulmonar levando a deterioração hemodinâmica. Destacam-se a hipóxia de todas as causas (decorrentes de toda e qualquer condição de hipoventilação com redução na tensão alveolar de oxigênio) e a acidose, sabidamente potentes determinantes de vasoconstrição pulmonar [81, 82]. Situações de estresse como dor, agitação psicomotora e reação a procedimentos como aspiração endotraqueal também podem desencadear instabilidade [76].

1.5 Comportamento hemodinâmico no período pós-operatório

Os mecanismos exatos para o desencadeamento da instabilidade hemodinâmica pulmonar e sistêmica no período pós-operatório não são completamente compreendidos. Acredita-se que vários elementos, em

diferentes situações, concorram e interajam para que um evento de instabilidade possa correr.

A forma mais bem descrita de instabilidade inicia-se com a elevação súbita da pressão pulmonar. Esta elevação leva a um aumento no volume diastólico final do ventrículo direito, resultando diretamente em diminuição no débito ventricular esquerdo. Ocorre o desvio septal da direita para a esquerda, contribuindo para o baixo débito ventricular e hipotensão arterial sistêmica. Estes fatores diminuem a perfusão coronariana, levando à isquemia miocárdica que acentua a falência ventricular [78-80]. A acidose metabólica decorrente do baixo débito ventricular constitui fator adicional para o aumento da resistência e da pressão pulmonar. O aumento súbito da pressão arterial pulmonar causa também obstrução das vias aéreas inferiores, devido à distensão de pequenos vasos, e leva à diminuição da complacência pulmonar e dificuldade ventilatória, agravando ainda mais a hipóxia, a hipercapnia e a acidose [83]. Perpetua-se, dessa forma, um ciclo de ocorrências que pode levar à falência cardiocirculatória global e óbito [80].

No entanto, nem toda instabilidade vascular pulmonar e cardíaca, no período pós-operatório, acontece com a riqueza dos detalhes citados anteriormente. Situações de instabilidade hemodinâmica podem ocorrer sem a elevação da pressão pulmonar de maneira tão pronunciada. Desta forma, é de extrema importância avaliar a razão entre as pressões médias arteriais pulmonar e sistêmica (PMAP/PMAS). Na prática clínica considera-se níveis $\leq$ 0,25 como aceitáveis, embora não haja estudos que validem este consenso. Sabe-se que na presença de disfunção ventricular direita, com impacto sobre o débito cardíaco, os valores absolutos de pressão pulmonar podem estar próximos de

níveis considerados normais. Porém, a razão PMAP/PMAS estará aumentada. Desta forma, o sinal mais perceptível de instabilidade será a hipotensão sistêmica [3, 77].

A prevenção e o manejo da instabilidade vascular pulmonar e sistêmica, assim como da disfunção cardíaca que ocorre em paralelo, envolve algumas estratégias. No que diz respeito especificamente à circulação pulmonar, a prevenção deve ser feita evitando-se à exposição aos fatores desencadeadores como a hipóxia, a acidose, a dor e a agitação. O manejo inclui uso de óxido nítrico inalado, podendo também ser usados inibidores da fosfodiesterase 5 [84, 85], prostanóides intravenosos e inalatórios [86, 87] e drogas vasoativas como o milrinone [88]. A disfunção cardíaca global é tratada com uso de drogas inotrópicas. Em última instância, quando estas estratégias falham e o paciente evolui para colapso circulatório, a aplicação de suporte circulatório (*Extracorporeal Membrane Oxygenation* – ECMO) é uma opção para o salvamento, sendo utilizado como estratégia para a recuperação pulmonar e cardíaca [10, 89].

1.6 Crise de hipertensão pulmonar

Embora a instabilidade no comportamento hemodinâmico pós-operatório seja conhecida, na prática clínica, há dificuldade em se definir quais eventos poderiam ou deveriam ser considerados como *crise de hipertensão pulmonar*. As definições variam entre especialistas e entre instituições [90]. O Quadro 1

demonstra, de forma concisa, tentativas de definição de *crise de hipertensão pulmonar*, ao longo dos anos, por diversos autores, em diferentes estudos.

Quadro 1 – Critérios para definição de crise de hipertensão pulmonar

Ano	Autores	Título do estudo	Definição de *crise de hipertensão pulmonar*
1991	Hopkins RA, Bull C, Haworth SG, et al. [91].	Pulmonary hypertensive crises following surgery for congenital heart defects in young children.	*Crises de maior gravidade:* aumento súbito da pressão arterial pulmonar ≥ 75% da pressão arterial sistêmica, aumento da pressão venosa central em 20%, redução em pelo menos 20% na pressão sistêmica, queda na saturação periférica de oxigênio < 90% e sinais de baixo débito cardíaco; *Crises de menor gravidade*: elevação na pressão arterial pulmonar acima de 80% da pressão arterial sistêmica, sem queda desta última.
1996	Bando K, Turrentine MW, Sharp TG, et al. [92].	Pulmonary hypertension after operations for congenital heart disease: analysis of risk factors and management.	Incremento hiperagudo (> 50%) da pressão arterial pulmonar sistólica acompanhado de profunda redução no débito cardíaco e queda na saturação venosa de oxigênio.
2000	Miller OI, Tang SF, Keech A, et al. [93].	Inhaled nitric oxide and prevention of pulmonary hypertension after congenital heart surgery: a randomised double-blind study.	Episódios em que a razão entre pressão arterial pulmonar e a sistêmica eleva-se acima de 75%. Os episódios são classificados como *maiores,* na presença de redução acima de 20% na pressão sistêmica, ou queda na saturação periférica de oxigênio < 90%, ou ainda, ambas. Foram classificados como *menores,* quando a pressão arterial sistêmica e a saturação periférica de oxigênio permaneceram estáveis. Estes mesmos critérios foram adotados posteriormente por outros autores [94, 95].
2002	Lindberg L, Olsson AK, Jögi P, et al. [49].	How common is severe pulmonary hypertension after pediatric cardiac surgery?	*Hipertensão arterial pulmonar grave:* aumento na pressão média arterial pulmonar para nível igual ou superior à sistêmica. *Crise de hipertensão pulmonar*: aumento na pressão média arterial pulmonar para nível igual ou superior à sistêmica acompanhado de queda nesta última.
2015	Hofer A, Heschi M, Kern C, et al. [96].	A prospective randomised study of postoperative prophylactic application of sildenafil after pediatric cardiac surgery	Aumento na pressão arterial pulmonar para nível igual ou superior à pressão sistêmica.

Ressalte-se que a última diretriz publicada sobre hipertensão pulmonar pediátrica (*Pediatric Pulmonary Hypertension: Guidelines from the American Heart Association and American Thoracic Society - 2015)* [10] citou como critério de crise a definição de Hopkins de 1991.

Esta diversidade de critérios para definição de *crise de hipertensão pulmonar* e as diferenças nas casuísticas usadas nos estudos (tipos de cardiopatias, faixas etárias variadas, presença ou ausência de síndromes extras cardíacas, entre outras) levam a dificuldades em se conhecer sua real prevalência e estabelecer comparações sob diferentes ópticas. Sabe-se que entre os anos de 1980 e 1990, quando o óxido nítrico passou a ser amplamente utilizado, a prevalência das *crises de hipertensão pulmonar* e a mortalidade associada a elas diminuíram consideravelmente [76]. Em análises retrospectivas de séries de casos, a prevalência da *crise de hipertensão pulmonar*, na população pediátrica submetida à cirurgia cardíaca, variou de 0,7% a 15,7% [49, 92, 94, 97]. Quando considerados apenas pacientes portadores da Síndrome de Down, a prevalência foi de aproximadamente 10% e entre pacientes com defeito do septo atrioventricular, 14% [49]. O estudo que apontou ocorrência de 0,7% considerou a forma mais grave da crise, episódios com aumento importante e sustentado da pressão pulmonar, hipoxemia, hipotensão arterial sistêmica e distúrbios metabólicos graves. A mortalidade ocorreu em 22,2% [49]. É importante enfatizar que a baixa ocorrência de formas graves é relatada em centros terciários de países desenvolvidos, onde as indicações cirúrgicas são precoces, o óxido nítrico inalatório está disponível, assim como todas as demais tecnologias para o adequado cuidado intensivo pós-operatório. A ocorrência da

crise de hipertensão pulmonar deve ser consideravelmente maior nas áreas onde esta assistência não está disponível [1, 3, 76].

Embora na maioria dos estudos a atenção esteja voltada para situações mais graves associadas a maior mortalidade, o cenário das instabilidades hemodinâmicas (pulmonar e sistêmica) pós-operatória é mais ampla. Existem eventos de menor gravidade, mas de longa duração, sem pronta resposta a ventilação manual e aprofundamentos da sedação. Há outros eventos que ocorrem de forma repentina, ao longo de várias horas. Há ainda situações sem elevação da pressão pulmonar e com queda na sistêmica, onde são necessárias várias modificações em esquemas terapêutico como inotrópicos e drogas vasoativas. Estes eventos precisam ser considerados juntamente com as típicas *crises de hipertensão pulmonar* uma vez que contribuem para a necessidade de ventilação mecânica prolongada, permanência em unidade de tratamento intensivo e internação mais longa. Assim, temos um cenário mais realístico relacionado aos transtornos hemodinâmicos cardiopulmonares que podem complicar o curso pós-operatório dos pacientes cardiopatas submetidos à correção cirúrgica.

1.7 Pressupostos e justificativa

O presente estudo partiu de alguns pressupostos: 1) existe remodelamento vascular pulmonar em pacientes pediátricos com alterações hemodinâmicas associadas a defeitos septais cardíacos, onde se sabe que elementos inflamatórios cumprem papel fisiopatológico mesmo antes do

tratamento cirúrgico; 2) a cirurgia cardíaca com uso de circulação extracorpórea cursa com resposta de caráter inflamatório adicional, de magnitude importante, com potencial impacto sobre o coração e a circulação pulmonar e sistêmica; 3) citocinas, quimiocinas e moléculas relacionadas às suas vias de sinalização têm ação sobre o tônus vascular, notadamente na circulação pulmonar; 4) alguns pacientes permanecem com pressão pulmonar elevada mesmo após a correção cirúrgica da cardiopatia e alta hospitalar.

Sendo assim, este estudo procurou investigar possíveis associações entre comportamento hemodinâmico pulmonar pós-operatório, perfis de marcadores inflamatórios, eventos clínicos relevantes no período de cuidados intensivos e persistência de anormalidade pressórica (pulmonar) após a alta hospitalar. O conhecimento de tais associações é crítico para melhor manejo desta população e busca de estratégias terapêuticas cada vez mais adequadas. Alterações hemodinâmicas e eventos pós-operatórios acrescentam morbimortalidade além de terem impacto sobre a duração e custos da hospitalização [98]. A presença de alterações hemodinâmicas após a alta hospitalar precisa ser prevista, de alguma forma, dado o prognóstico sombrio da assim chamada *hipertensão pulmonar pós-operatória*, cuja detecção deve ser imediata.

2. OBJETIVO

O presente estudo teve como objetivo investigar, em pacientes pediátricos, no contexto do tratamento cirúrgico de defeitos septais cardíacos, possíveis relações entre hemodinâmica pulmonar, elementos de resposta inflamatória e eventos clínicos no período pós-operatório. Além disso, identificar possíveis preditores de pressão arterial pulmonar persistentemente alterada após a alta hospitalar.

2.1 Desfechos

1. Comportamento hipertensivo em nível de circulação pulmonar no período pós-operatório sob cuidados intensivos.
2. Ocorrência de eventos clínicos pré-definidos no mesmo período.
3. Persistência de pressão arterial pulmonar alterada (elevada) seis meses após o tratamento cirúrgico.

2.2 Metas

1. Construção de curvas de pressão arterial pulmonar e sistêmica para o momento imediatamente após a cirurgia (primeiras horas) e períodos subsequentes (dois a três dias), procurando identificar indivíduos com padrão hipertensivo pulmonar e verificar a possível relação com elementos de resposta inflamatória.

2. Verificar possíveis determinantes de eventos pós-operatórios clinicamente relevantes com especial atenção ao comportamento hemodinâmico inicial e resposta inflamatória após a circulação extracorpórea. Identificar possíveis fatores com impacto na função cardíaca global analisada no final do período de cuidados intensivos.
3. Identificar fatores clínicos, hemodinâmicos e laboratoriais com possível impacto sobre a hemodinâmica pulmonar avaliada seis meses após o tratamento cirúrgico.

3. MÉTODOS

3.1 Tipo de estudo

O estudo foi do tipo prospectivo, de coorte, com observações de caráter longitudinal, envolvendo a comparação entre grupos. Os participantes foram crianças submetidas ao tratamento cirúrgico de cardiopatias congênitas, observadas durante o período de internação e seis meses após o tratamento cirúrgico.

3.2 Casuística

Os pacientes incluídos foram atendidos na Unidade Clínica de Cardiologia Pediátrica e Cardiopatias Congênitas do Adulto, Instituto do Coração, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo no período de novembro de 2016 a novembro de 2018. Foram incluídos pacientes na faixa etária de até três anos, com comunicações não restritivas entre as câmaras cardíacas (diâmetro da comunicação pós-tricuspídea > 50% do diâmetro do anel aórtico pela ecocardiografia transtorácica), fisiologia biventricular, indicados para o tratamento cirúrgico. Satisfeitos os critérios de inclusão e havendo concordância por parte dos pais ou responsáveis em relação ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo A), os pacientes foram incluídos no estudo de forma consecutiva. O protocolo do estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq - 4324/15/151 – Anexo B) e teve o suporte financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP - Processo nº 2016/21587-5).

3.3 Critérios de inclusão

Os seguintes critérios foram considerados para inclusão dos pacientes:

- Faixa etária pediátrica, idade até três anos.
- Cardiopatias simples, com comunicações não restritivas entre as câmaras cardíacas e/ou grandes artérias, fisiologia biventricular.
- Presença de sinais clínicos e/ou ecocardiográficos indicativos de aumento da pressão pulmonar.
- Ausência de morbidades ou condições com comprometimento de múltiplos órgãos e sistemas.
- Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, por parte dos pais ou responsáveis.

3.4 Critérios de exclusão

Os seguintes critérios de exclusão foram considerados:

- Idade inferior a um mês (recém-nascidos)
- Presença de síndromes, exceto a síndrome de Down
- Saturação periférica de oxigênio $\leq$ 85% sugerindo *shunt* de direita para esquerda com doença vascular pulmonar avançada
- História clínica recente (últimos 15 dias) de processos inflamatórios ou infecciosos, sobretudo acometendo vias aéreas.

3.5 Dados demográficos e clínicos do período pré-operatório

Todos os pacientes tiveram os dados demográficos e antropométricos registrados, assim como diagnóstico anatômico das anomalias cardiovasculares com confirmação ecocardiográfica. Foram coletados dados de história clínica e exame físico como presença de insuficiência cardíaca, congestão pulmonar, fenômenos bronquíticos repetitivos, deficiência de desenvolvimento pondo-estatural e a presença ou não da síndrome de Down. Os dados hematológicos avaliados na rotina pré-operatória também foram registrados.

3.6 Dados ecocardiográficos

Os dados ecocardiográficos foram obtidos e registrados em quatro ocasiões:

1. Como parte da avaliação inicial
2. Durante o ato cirúrgico
3. Na alta da unidade de cuidados intensivos e intermediários
4. Seis meses após a correção cirúrgica

Na avaliação pré-operatória, além da análise qualitativa pormenorizada das anomalias cardiovasculares, foram registrados dados relativos às condições de pressão e fluxo pulmonar e sistêmico. A pressão sistólica arterial pulmonar considerada, na ausência de obstrução no trato de saída de ventrículo direito, como sendo igual à pressão sistólica no ventrículo direito (PSVD), foi calculada

com base no gradiente de regurgitação tricuspídea. A pressão média arterial pulmonar (PMAP) foi calculada usando a fórmula: (0,61 x pressão sistólica) + 2 em mmHg [14]. A razão entre o fluxo sanguíneo pulmonar e sistêmico (Qp/Qs) foi estimada com base nos parâmetros de fluxo nas vias de saída dos ventrículos direito e esquerdo e nas dimensões dos anéis pulmonar e aórtico. O fluxo sanguíneo pulmonar venoso (VTI_{VP}) foi estimado usando a integral velocidade-tempo [99, 100]. A função sistólica do ventrículo direito foi avaliada usando a excursão sistólica do anel tricuspídeo (TAPSE) [101, 102].

Durante o período intra-operatório, após o término da circulação extracorpórea, as funções ventriculares direita e esquerda foram avaliadas usando, respectivamente, *fractional area change* (FAC) [103] e fração de ejeção.

Na análise pós-operatória, realizada logo após a alta do paciente da unidade de cuidados intensivos, foram registrados parâmetros relacionados à função ventricular direita (FAC, *strain* longitudinal de pico sistólico, TAPSE, índice de *performance* miocárdica) e esquerda (fração de ejeção e fração de encurtamento).

Seis meses após o tratamento cirúrgico, a ecocardiografia transtorácica foi realizada para avaliar a pressão sistólica do ventrículo direito com o objetivo de identificar pacientes com hipertensão arterial pulmonar residual.

3.7 Rotinas de atendimento dos pacientes pediátricos portadores de cardiopatia congênita com hipertensão pulmonar operados na Instituição

Os pacientes incluídos no estudo receberam tratamento conforme rotinas vigentes na instituição no período em que a pesquisa foi realizada. Os tópicos 3.7.1, 3.7.2 e 3.7.3 descrevem os protocolos de cuidados durante o ato cirúrgico (anestesia, circulação extracorpórea, monitorização, uso de drogas vasoativas) e no período pós-operatório (sedação e manejo da ventilação mecânica).

3.7.1 Anestesia e monitorização durante o ato cirúrgico

Os pacientes incluídos no estudo foram submetidos à indução anestésica com uso de cetamina e/ou midazolan nas respectivas doses, 1 a 2 mg/kg e 0,05 a 0,1 mg/kg. Paralelamente, foi realizado o bloqueio muscular com brometo de pancurônio na dose de 0,08 mg/kg. Após a intubação orotraqueal procedeu-se à passagem de cateter venoso central, punção arterial e sondagem vesical de demora. No ato da incisão cirúrgica, foi iniciada anestesia inalatória com sevoflurano na dose de 1 a 1,5 mg/kg e no decorrer da cirurgia a administração de midazolan de acordo com a necessidade de cada paciente. Durante o procedimento cirúrgico, os pacientes permaneceram monitorizados continuamente com pressão venosa central, pressão arterial invasiva, traçado de eletrocardiograma, oximetria de pulso, capnografia e temperatura central. Ao término da circulação extracorpórea, os pacientes foram mantidos com óxido

nítrico inalatório na dose de 20 partes por milhão (ppm). A introdução de fármacos vasoativos como adrenalina (0,05 µg/kg/min) e milrinone (0,5 µg/kg/min) ocorreu conforme a necessidade de cada paciente, baseada em parâmetros de perfusão tecidual como lactato e diurese. E finalmente foi realizado o ecocardiograma transesofágico e a colocação de cateter em artéria pulmonar. Este cateter foi mantido por um período de aproximadamente 72 horas na unidade de terapia intensiva. A retirada ocorreu por via percutânea. O monitoramento da pressão arterial pulmonar em casos de hipertensão constitui rotina no manejo dessas crianças na Instituição.

3.7.2 Circulação extracorpórea

O protocolo institucional para uso da circulação extracorpórea em pediatria, vigente durante o período em que os pacientes deste estudo foram submetidos a cirurgia, previa a utilização de um circuito descartável de tubos e oxigenador de acordo com o peso do paciente. Este circuito foi constituído por reservatório venoso, três aspiradores, um oxigenador de membrana com filtro arterial acoplado, trocador de calor, cava única ou dupla para drenagem venosa, linha arterial para o retorno do sangue oxigenado, hemoconcentrador e circuito de cardioplegia. O fluxo sanguíneo variou de 150 mL/kg a 200 mL/kg. Os pacientes pesando até 10 quilos utilizaram um circuito com capacidade de preenchimento de aproximadamente 300 a 400 mL. A solução utilizada para preencher o circuito foi composta por Ringer com lactato, bicarbonato de sódio e concentrado de hemácias irradiado. Plasma e albumina humana a 20% foram utilizados em alguns casos. A proporção de cada elemento que compôs esta

solução foi calculada com base no hematócrito do paciente e o concentrado de hemácias foi utilizado objetivando mantê-lo em torno de 30% durante o tempo da circulação extracorpórea. Ao final, os pacientes foram submetidos à ultrafiltração modificada por um tempo de 10 minutos. A ultrafiltração teve por objetivo otimizar o hematócrito, diminuir o uso de hemoderivados no período pós-operatório, evitar o edema, entre outros benefícios.

3.7.3 Sedação e ventilação no período pós-operatório

Todos os pacientes permaneceram sedados, sob ventilação mecânica e uso de óxido nítrico no circuito do ventilador, com o objetivo de evitar a instabilidade do tônus vascular pulmonar no período pós-operatório imediato e mediato. O protocolo de sedação baseou-se na administração de fármacos como fentanil, cetamina e midazolan. O fentanil foi introduzido logo após a chegada dos pacientes na unidade de terapia intensiva, na dose de 2 mg/kg/h. A introdução de cetamina (0,5 mg/kg/h) e/ou midazolan (0,2 mg/kg/h) ocorreu conforme a necessidade de cada paciente. Além de sedação e analgesia, a administração combinada destes fármacos teve por objetivo a manutenção de condições hemodinâmicas ideais e, sobretudo, evitar a instabilidade da pressão pulmonar. O uso do bloqueador muscular foi realizado quando, apesar da sedação contínua, os pacientes apresentaram episódios recorrentes de aumento da pressão pulmonar com instabilidade hemodinâmica (cisatracúrio 0,15 mg/kg). Pacientes instáveis, em especial aqueles sensíveis à manipulação, receberam analgesia, sedação e/ou bloqueador muscular antes da execução de procedimentos como curativos e aspiração traqueal. A descontinuidade da

sedação ocorreu de forma gradual e teve duração variável a depender de fatores como agitação psicomotora, aumento da pressão pulmonar e síndrome de abstinência.

Durante o tempo de ventilação mecânica foi utilizado o modo pressão controlada (PCV) modalidade ventilação mandatória intermitente sincronizada. A pressão controlada foi ajustada para obter volume corrente expiratório de 8 mL/kg. A frequência mandatória foi de 2/3 da frequência esperada para idade; o tempo inspiratório de 3 a 4 constantes de tempo (0,6 a 0,7 segundos); a pressão positiva expiratória final (PEEP) de 5 cmH_2O; a fração inspirada de oxigênio foi mantida em 100% e de óxido nítrico inalado em 20 ppm. Essa estratégia foi mantida por aproximadamente 48 horas após a cirurgia ou, em casos de pacientes com instabilidade hemodinâmica associada ao aumento da pressão pulmonar, até a cessação destes eventos. Após este período, foi iniciada a redução dos parâmetros ventilatórios e a fração de oxigênio foi diminuída gradualmente até 40%. A retirada do óxido nítrico se deu por redução de 5 ppm a cada 6 horas. Em paralelo, ocorreu a diminuição da sedação contínua, até que o paciente apresentasse condições hemodinâmicas e respiratórias favoráveis para a extubação.

3.8 Registros intra-operatórios

Para efeito de caracterização hemodinâmica através de medida direta, foram aferidas a pressão arterial pulmonar e a sistêmica (sistólica, diastólica e média), antes e após a circulação extracorpórea. Dados adicionais foram

computados em relação ao tratamento cirúrgico, como tipo de operação realizada, tempo de circulação extracorpórea e de anóxia, temperatura mínima durante circulação extracorpórea, temperatura máxima na saída da mesma, uso de hemoderivados e de ultrafiltração, e quantidade de protamina após o término da cirurgia.

3.9 Registros no período pós-operatório

No período pós-operatório imediato, primeiro e segundo dias de pós-operatório, as pressões arteriais pulmonar e sistêmica foram mensuradas diretamente por meio de cateteres posicionados em artérias pulmonar e radial, respectivamente. Os registros ocorreram com intervalos de duas horas, pelo período de dois a três dias, sendo obtidas 30 medidas de cada paciente. A razão entre a pressão média arterial pulmonar e a sistêmica foi calculada para cada medida. A partir dos valores obtidos, foram construídas curvas de pressão arterial.

Paralelamente, foram computados dados hematológicos (número total de leucócitos e suas frações, contagem de plaquetas e nível plasmático de proteína C reativa), indicadores do *status* da microcirculação (saturação venosa central de oxigênio e níveis plasmáticos de bicarbonato de sódio e lactato) e informações correspondentes à quantidade de drogas vasoativas utilizadas, expressas através do *Vasoactive Inotropic Score* (VIS) [104, 105]. Foram também computados o tempo sob ventilação mecânica, tempo de permanência na unidade de cuidados intensivos e intermediários e óbito de qualquer natureza.

3.10 Caracterização dos desfechos

Os tópicos a seguir mostram como os desfechos (item 2.1) foram estabelecidos e trabalhados no estudo.

3.10.1 Comportamento hipertensivo em nível de circulação pulmonar no período pós-operatório sob cuidados intensivos

Uma primeira ideia, foi definir grupos levando em conta o fato de os pacientes terem ou não apresentado níveis de pressão arterial pulmonar com valores médios acima da pressão arterial sistêmica, pelo menos uma única vez durante o período de observação. Este critério, deixaria um número muito pequeno de pacientes no grupo hipertensivo, o que poderia tornar inviável a análise. Uma segunda possibilidade, foi definir grupos de acordo com o comportamento da pressão média arterial pulmonar igual ou superior a 50% da sistêmica, conforme proposto for alguns autores [103]. Uma terceira possibilidade, consistiu em definir grupos hemodinâmicos de acordo com o comportamento da PMAP/PMAS nos primeiros momentos do período de cuidados intensivos. A base racional para esta opção, foi que os pacientes estariam ainda sob sedação profunda, em ventilação mecânica e em situação de estabilidade. Optou-se por considerar os quatro primeiros registros feitos na unidade de cuidados intensivos, correspondendo às primeiras seis horas do período pós-operatório. Trabalhando com a razão PMAP/PMAS foi obtido o valor médio para estas quatro medidas para cada paciente. No estudo, esta variável foi denominada

$PMAP/PMAS_{POI}$ (razão entre a pressão média arterial pulmonar e sistêmica nas seis primeiras horas do período pós-operatório).

Após terem sido ensaiados diferentes níveis de corte para variável $PMAP/PMAS_{POI}$ (ver sessão de resultados), foi concluído que o valor de 0,40 seria o mais adequado para caracterização dos grupos hemodinâmicos. Além de prover dois grupos de pacientes de tamanhos equivalentes, este nível de corte foi o que melhor se relacionou com outros dados e eventos do período pós-operatório. Assim sendo, a intensão de analisar pacientes segundo grupos hemodinâmicos, foi uma meta estabelecida *a priori*, mas o nível de corte para caracterização dos grupos foi estabelecido *a posteriori* pelas razões já mencionadas.

3.10.2 Ocorrência de eventos clínicos pré-definidos no período pós-operatório

Neste estudo, os eventos clínicos relevantes foram definidos na fase de elaboração do projeto. Estes eventos foram constituídos por uma conjunção de alterações cardiocirculatórias e respiratórias. Foi considerada alteração relevante, a elevação da pressão pulmonar a níveis próximos ou acima da pressão arterial sistêmica, mas não de maneira isolada. Os eventos foram caracterizados quando a elevação da pressão pulmonar ocorreu concomitantemente à redução na pressão média arterial sistêmica de pelo menos 20% e queda na saturação periférica de oxigênio abaixo de 90%. Alguns desses episódios foram de gravidade suficiente para suscitar manobras de ressuscitação (bradicardia manifesta), se aproximando ao que classicamente se

considera crise de hipertensão pulmonar no período pós-operatório, fenômeno que se reveste de mortalidade elevada. Foram caracterizados também como evento, episódios de instabilidade que embora não tenham atingido esta gravidade foram de caráter repetitivo, ocorrendo seguidas vezes ao longo de um período (manhã, tarde ou noite), ocasionando modificações de drogas vasoativas, mudanças nos parâmetros ventilatórios, entre outras medidas. Neste estudo, estas ocorrências foram denominadas *Eventos Cardiorrespiratórios e Hemodinâmicos Relevantes (ECRHRs).* As elevações transitórias e isolada da pressão pulmonar, mesmo a níveis supra sistêmicos, que responderam prontamente (em segundos ou minutos) às manobras iniciais (sedação, ventilação manual e uso de bloqueador muscular) não foram caracterizadas como ECRHR. Com o objetivo de evitar vieses, os pacientes foram avaliados por três observadores independentes, em relação ao comportamento clínico e hemodinâmico global no período pós-operatório em unidade de tratamento intensivo.

3.10.3 Persistência de pressão arterial pulmonar alterada (elevada) seis meses após o tratamento cirúrgico

Aos seis meses do tratamento cirúrgico, a ecocardiografia transtorácica foi realizada com o objetivo de identificar pacientes com hipertensão pulmonar residual, mesmo sendo discreta. Foram considerados anormais níveis superiores a 30 mmHg para a pressão sistólica arterial pulmonar. O nível de 30 mmHg corresponde a pressão média arterial pulmonar de 20 mmHg, valor de corte a partir do qual se estabelece o diagnóstico de hipertensão pulmonar

discreta segundo diretrizes atuais [9, 14]. A preocupação em identificar elevações pouco pronunciadas da pressão pulmonar foi baseada no fato de que a hipertensão pulmonar pós-operatória é uma condição associada a prognóstico muito reservado. Assim sendo, optou-se por nível de corte compatível com a identificação de casos iniciais, visando ao tratamento precoce e acompanhamento apropriado.

3.11 Dados laboratoriais

3.11.1 Coleta de material e estocagem

Para a determinação de marcadores de resposta inflamatória e imune, foram coletadas amostras de sangue venoso em quantidade compatível com a faixa etária (máximo, 4 mL). As amostras foram coletadas em tubo sem adição de anticoagulante. O soro foi então separado mediante centrifugação a 1500 g por 20 minutos. Alíquotas de soro foram preparadas e estocadas a – 80ºC até seu uso. Foram realizadas três coletas por paciente: 1) na condição basal, no máximo 72 horas antes do dia da cirurgia; 2) quatro horas após o término da circulação extracorpórea; 3) 24 horas após o término da mesma.

3.11.2 Mediadores de inflamação

As determinações foram feitas a partir de alíquotas de soro, com a utilização de painel disponível comercialmente: *Proteome Profiler – Human Cytokine Array Panel A, R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA*. Com uso deste painel foi feita determinação semiquantitativa, a partir de sinal obtido por quimioluminescência. As amostras foram sempre processadas em duplicata, sendo considerado como resultado o valor médio das leituras. A Figura 5 representa *dot blot* mostrando alguns dos marcadores inflamatórios investigados no estudo. Os resultados de 36 citocinas, quimiocinas e moléculas relacionadas foram apresentados em pixels, unidade de intensidade. O Quadro 2 relaciona os marcadores analisados de acordo com especificações do manual.

Além do painel inflamatório, outras variáveis foram verificadas: contagem total de leucócitos e frações, relação neutrófilo/linfócito, plaquetas e volume plaquetário médio.

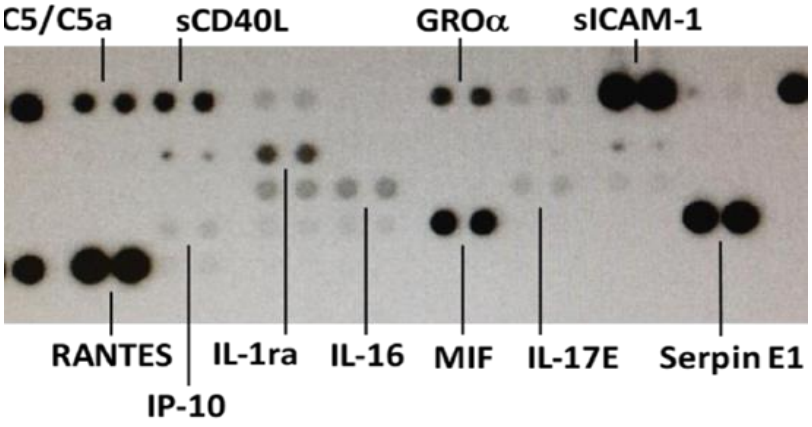


Figura 5 - *Dot blot* mostrando alguns dos marcadores inflamatórios investigados no estudo. O nível de saturação observado na figura é diferente daquele empregado para análise das proteínas.
C5/C5a, *complement component* 5/5a; CD40L; *CD40 ligand;* GROα, *growth-related oncogene alpha*; IL-16, interleucina 16; IL-1RA, *antagonista do receptor de interleucina 1;* IL-17E, interleucina 17E; IP-10, *interferon gamma-induced protein* 10; MIF, *macrophage migration inhibitory fator;* RANTES, *regulated on activation, normal T cell expressed and secreted*; ICAM-1, *intercellular adhesion molecule* 1; Serpin E1, *serine protease inhibitor E1.*

Quadro 2 - Quadro indicativo das proteínas investigadas no presente estudo

C5/C5a	IL-1β	IL-13	I-TAC
CD40 Ligand	IL-1RA	IL-16	MCP-1
G-CSF	IL-2	IL-17	MIF
GM-CSF	IL-4	IL-17E	MIP-1α/1β
GROα	IL-5	IL-21	Serpin E1
I-309	IL-6	IL-27	RANTES
sICAM-1	IL-8	IL-18	SDF-1
IFN-γ	IL-10	IL-32α	TNF-α
IL-1α	IL-12p70	IP-10	sTREM-1

Com exceção das *IL* (interleucinas), as citocinas envolvidas no estudo foram apresentadas conforme a denominação em língua inglesa.
C5/C5a, *complement component 5/5a*; G-CSF, *granulocyte-colony stimulating factor*; GM-CSF, *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*; GROα, *growth-related oncogene alpha*; I-309, *human CC chemokine I-309*; sICAM-1, *soluble intercellular adhesion molecule 1*; IFN-γ, *interferon gamma*; IP-10, *interferon gamma-induced protein 10*; I-TAC, *interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant*; MCP-1, *monocyte chemoattractant protein-1*; MIF, *macrophage migration inhibitory fator*; MIP-1α, *macrophage inflammatory protein 1 alpha and beta*; RANTES, *regulated on activation, normal T cell expressed and secreted*; SDF-1, *stromal cell-derived factor 1*; TNF- α, *tumor necrosis factor alpha*; sTREM-1, *soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1.*

3.11.3 Precauções de ordem técnica

Para a determinação das proteínas séricas dispostas em painel, foram tomadas precauções de ordem técnica. Os *kits* comerciais têm sensibilidade para detecção e semiquantificação de várias proteínas. Entretanto, cada um dos *kits* conta com quatro membranas (painéis), e recomenda-se que sua utilização seja apenas para análise comparativa entre elas. Para contornar este problema e viabilizar comparações entre pacientes (entre *kits*), foram usadas três estratégias. A primeira foi a utilização de padrões internos oferecidos pelo próprio *kit*. A segunda foi a colocação de um controle pediátrico lado a lado com cada paciente, no mesmo processamento, isto é, no mesmo *kit*: uma membrana para

o controle e três membranas para o paciente, nas condições basal, e quatro e 24 horas após a cirurgia. A terceira e mais importante estratégia foi a utilização de dados de referência do próprio laboratório. Neste caso, foram utilizados dados de pacientes e controles pediátricos, armazenados em nosso banco, e relativos ao processamento de 20 *kits* do mesmo fabricante. A título de ilustração, a análise de um dos pacientes encontra-se pormenorizada na Figura 6.

20 *kits* anteriormente processados no Laboratório (valores médios)

Controles		Pacientes	
C5/C5a	1798.43	C5/C5a	2331.74
CD40L	2968.006	CD40L	2799.782
G_CSF	214.0469	G_CSF	227.1485
GM_CSF	139.3496	GM_CSF	166.2713
GROa	2059.375	GROa	2177.653
I_309	170.2134	I_309	207.8896
sICAM_1	45702.07	sICAM_1	48779.19
IFN_g	188.1375	IFN_g	338.0368
IL_1a	140.0287	IL_1a	133.2167
IL_1b	199.1624	IL_1b	217.0935
IL_1ra	1742.087	IL_1ra	1561.474
IL_2	102.1023	IL_2	103.9216
IL_4	110.8349	IL_4	86.13202
IL_5	96.68092	IL_5	77.48597
IL_6	249.6111	IL_6	291.1459
IL_8	94.10035	IL_8	90.32694
IL_10	91.76122	IL_10	112.9099
IL_12p70	137.274	IL_12p70	133.1041
IL_13	560.0238	IL_13	560.867
IL_16	737.5823	IL_16	833.5696
IL_17	66.48578	IL_17	53.62913
IL17_E	257.3602	IL17_E	214.4333
IL_27	10.63751	IL_27	38.68698
IL_32a	6.229426	IL_32a	3.016629
IP_10	777.6624	IP_10	898.3734
I_TAC	308.9948	I_TAC	415.0314
MCP_1	251.2018	MCP_1	210.573
MIF	5867.032	MIF	7509.989
Serpin_E1	40957.73	Serpin_E1	46806.81
RANTES	61220.5	RANTES	69398.47
SDF_1	278.3835	SDF_1	312.2452
TNF_a	138.8852	TNF_a	152.6386
sTREM_1	120.4714	sTREM_1	101.919

***Kit* atual, representativo**

	Controle	Pacientes		
		Basal	4h	24h
C5/C5a	1552.018983	6236.424996	5217.468283	7244.21333
CD40L/TNFSF5	4383.250688	6270.516892	980.9721371	2612.305203
G-CSF	241.7271967	691.3144406	1221.957847	682.4863398
GM-CSF	158.0271189	341.5324551	298.0955188	137.6375884
CXCL1/GRO alfa	1312.031193	1203.648156	1037.575742	1257.789364
CCL1/I-309	658.67113	988.0780217	1026.863584	641.3086604
ICAM-1/CD54	38865.28176	39454.6711	35337.07136	43698.1428
IFN gamma	199.9082595	163.0922678	279.6874045	218.4593591
IL1 alfa	388.3967182	621.4560896	400.3790459	352.6042701
IL1 beta	327.0756629	88.88584541	388.1789453	252.7604291
IL1 ra	1852.3248	2521.63538	17135.16695	4673.69478
IL2	363.99563	343.5777697	365.8614386	60.20253806
IL4	258.6501633	343.3037336	221.5033029	128.3942341
IL5	60.66426128	85.11666342	153.2908371	232.9771414
IL6	608.7008114	334.4174722	649.3455973	896.6165188
IL8	239.744008	155.0138915	726.8460424	617.9836205
IL10	239.0005674	281.8741269	539.4280475	258.8328807
IL-12p70	377.462195	120.6920521	235.5243139	163.3249118
IL-13	1086.593447	1037.915616	1134.765172	806.5480478
IL-16	796.1441626	463.5989548	2853.42645	1246.019214
IL-17	364.0038628	187.9598609	199.85005	278.0847103
IL-17E	461.8208963	440.5931954	638.6685616	968.4810666
IL-27	412.3957717	365.248855	335.3516152	262.0528582
IL-32a	1388.810644	932.8388816	950.5589245	690.7292369
CXCL10/IP-10	670.9713824	786.9392989	3185.952315	792.276756
CXCL11/I-TAC	711.4195593	910.5874327	1126.057541	1073.177133
CCL2/MCP-1	661.3654146	855.2401954	811.484991	485.6193448
MIF	6361.339196	4975.028538	9653.523804	6559.934526
MIP-1alfa/beta	320.2150008	544.9009216	635.5124651	522.0334205
Serpina E1/PAI1	49632.00787	49320.44239	51507.83156	40006.9215
CCL5/RANTES	55106.40597	62672.99148	49528.02989	61343.34476
SCXCL12/SDF-1	4146.878274	5027.658761	5709.266881	3781.439228
TNF-a	220.8822183	173.6820098	119.0875483	157.1626756
sTREM-1	494.7598498	239.9731501	541.0067686	289.3696887
IL-18/IL-1F4	1342.252409	1136.636893	10922.07643	8077.135191
IL-21	610.8783856	511.411621	685.6369228	907.1107709

Figura 6 – Exemplo representativo da análise de marcadores (proteínas) solúveis. Para cada um dos *kits* processados, foi necessária uma equiparação a valores de referência do laboratório. Neste caso, foram utilizados valores relativos a 20 *kits* anteriormente processados, cujos resultados médios são mostrados na tabela à esquerda (normais, coluna à esquerda; pacientes, coluna à direita). À direita, exemplo representativo do processamento de um *kit*. Da esquerda para a direita, controle pediátrico e um paciente nas condições basal, quatro e 24 horas após a circulação extracorpórea. Sem esse tipo de equiparação, os resultados se tornariam não comparáveis entre indivíduos, uma vez que o painel não foi desenvolvido para comparações entre *kits.* Todos os *kits* foram processados conforme exemplificado acima.

3.12 Procedimentos estatísticos

Os resultados referentes as variáveis numéricas do estudo são apresentados como mediana e intervalo interquartílico (percentis 25 e 75). As variáveis categóricas são apresentadas como número absoluto e porcentagem. Os testes de Wilcoxon, Friedman e coeficiente de correlação de Pearson foram usados para avaliar diferenças e associações. A estatística inferencial foi usada para analisar a condição hemodinâmica pós-operatória, marcadores biológicos e variáveis relacionadas à microcirculação em grupos hemodinamicamente definidos, bem como potencial preditores. Para esse proposito, a maioria dos dados foi analisado após transformação Box-Cox. O modelo linear geral foi usado para testar diferenças entre pacientes e controles no período pré-operatório e entre grupos de pacientes seis meses após a cirurgia. O modelo linear geral para medidas repetidas foi usado para analisar diferenças entre os grupos em relação aos dados laboratoriais obtidos no período pré-operatório, quatro e 24 horas após a cirurgia e analisar as curvas de pressão arterial e saturação periférica de oxigênio do período pós-operatório. A regressão logística (análise univariada e multivariada) foi usada para analisar possíveis preditores de eventos cardiopulmonares no período pós-operatório e pacientes com hemodinâmica pulmonar anormal seis meses após a cirurgia. Curvas ROC foram construídas e os níveis de sensibilidade e especificidade associados com o valor de corte foram determinados. Em todos os procedimentos adotou-se 0,05 como nível de significância. A análise estatística foi realizada usando o programa SPSS-IBM, versão 26 (*Armonk, NY, USA*).

3.13 Resumo das etapas do estudo

O diagrama representado na Figura 7 demonstra de maneira resumida as etapas do estudo.

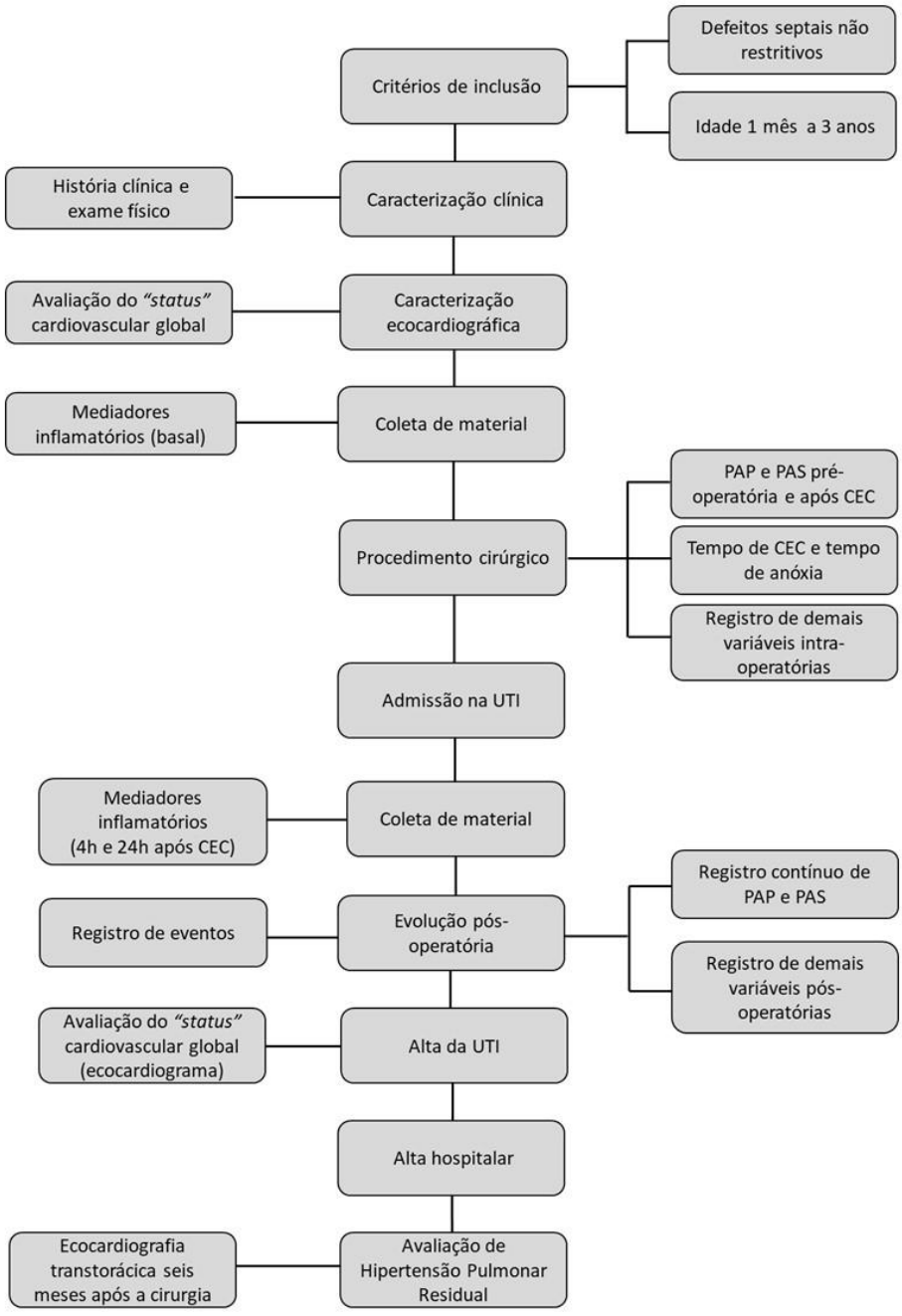


Figura 7 - Esquema representativo das etapas consideradas no estudo.
CEC, circulação extracorpórea; PAP, pressão arterial pulmonar; PAS, pressão arterial sistêmica; UTI, unidade de terapia intensiva.

4. RESULTADOS

4.1 Etapas na seleção de pacientes

No presente estudo, a coleta de dados ocorreu durante dois anos, tendo como início novembro de 2016 e término novembro de 2018. Neste período, houve na Unidade Clínica de Cardiologia Pediátrica e Cardiopatias Congênitas do Adulto do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1321 procedimentos cirúrgicos realizados em crianças com idade entre zero e três e anos. Destes, aproximadamente 200 pacientes foram avaliados para inclusão, sendo que 40 atenderam aos critérios e entraram de forma consecutiva no estudo. A Figura 8 apresenta um panorama do contexto em que estes 40 pacientes encontravam-se inseridos e ilustra as etapas no delineamento da casuística.

4.2 Dados descritivos da amostra estudada

4.2.1 Características dos pacientes incluídos: elementos de gravidade

Os dados antropométricos, demográficos e diagnósticos individuais dos 40 pacientes incluídos encontram-se dispostos na Tabela 2. A idade variou entre quatro e 35 meses (11 [8-16] meses, mediana e percentis 25 e 75) e a distribuição entre os gêneros masculino e feminino foi de 11:29. Em relação ao tipo de cardiopatia, todos apresentavam comunicações intracardíacas amplas (não restritivas) com defeitos pós tricuspídeos.

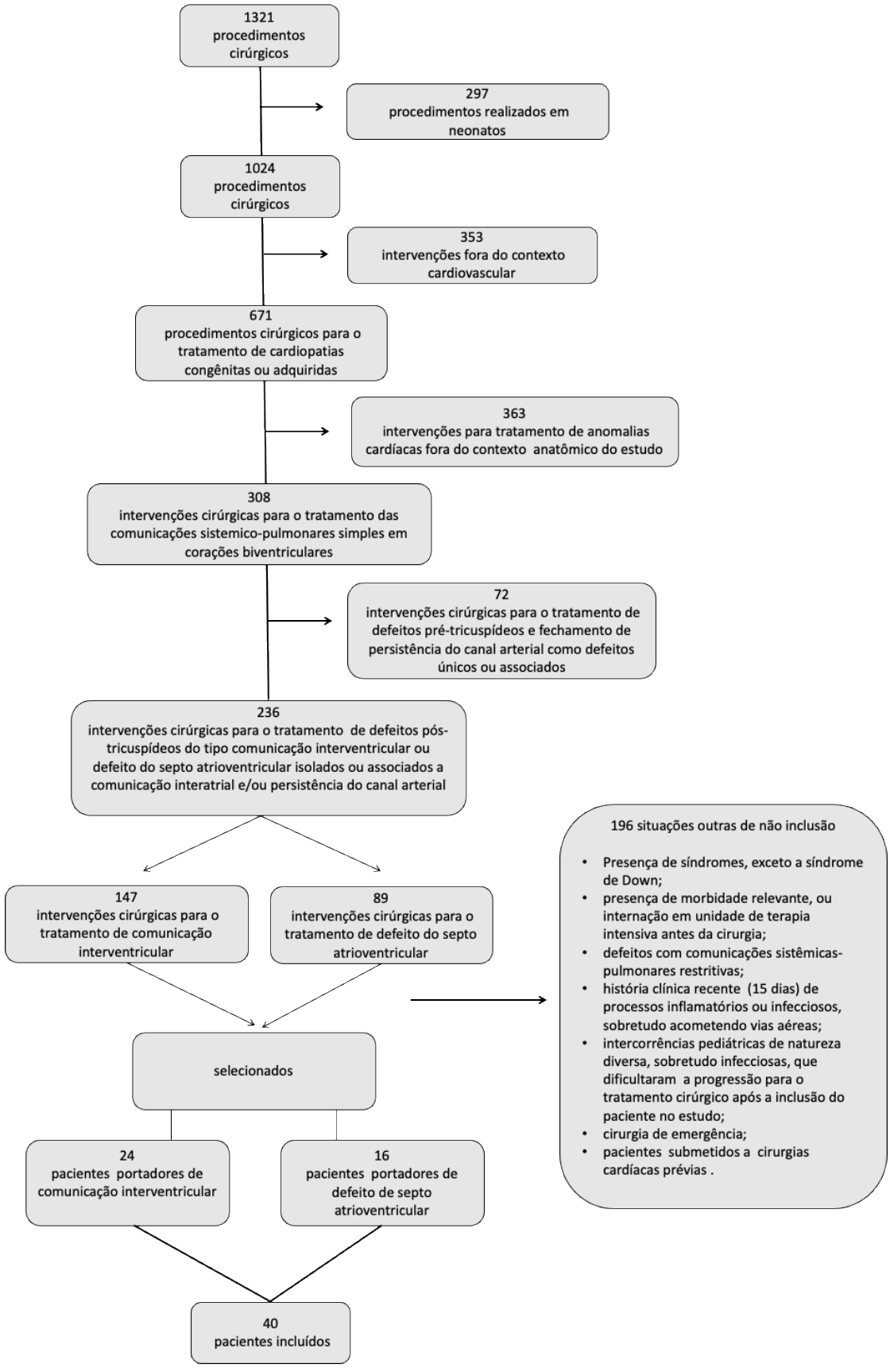


Figura 8 - Etapas na seleção e situações de não inclusão de pacientes no período de novembro de 2016 a novembro de 2018.

Tabela 2 – Dados antropométricos, demográficos e diagnósticos

Pacientes Nº	Identificação	Gênero	Idade (meses)	Peso (kg)	Altura (cm)	S. Down	Diagnóstico	Sat. O_2 (%)	Qp/Qs basal
1	IRGS	F	6	6,05	63	S	DSAV PCA	87	3,2
2	NAF	F	11	5,80	62	S	DSAV PCA	88	1,6
3	VHA	M	11	6,98	65	S	DSAV	93	2,6
4	LBS	F	35	9,90	82	S	DSAV	93	1,8
5	EBES	F	10	5,69	63	S	DSAV PCA	93	3,4
6	YVHC	F	19	6,60	70	S	CIV	98	2,1
7	AAF	M	13	8,67	77	N	CIV	99	3,8
8	PVS	M	29	11,45	87	N	CIV	99	2,8
9	LAM	F	4	4,10	59	N	CIV	95	1,9
10	SBF	F	17	8,36	79	N	CIV	97	3,3
11	LGOS	F	12	7,31	69	N	CIV	98	1,3
12	LCHOSS	M	16	5,17	69	S	DSAV	88	2,9
13	MHSAV	F	10	5,84	65	S	DSAV	94	2,0
14	SVC	F	8	5,50	61	S	DSAV CIA PCA	93	1,9
15	IRF	F	13	7,95	70	N	CIV	96	4,6
16	PHR	M	5	6,41	65	S	CIV	96	1,7
17	KAO	F	7	7,59	74	N	CIV	95	1,8
18	MMS	F	15	6,90	71	N	CIV	99	2,5
19	MEGSC	F	13	5,92	69	S	DSAV	94	3,5
20	KSO	F	15	7,80	79	S	DSAV CIA PCA	93	2,2
21	MJS	F	22	7,40	74	N	CIV PCA	96	1,8
22	VOS	F	7	4,89	64	N	CIV	97	2,1
23	GSB	F	8	6,22	63	S	DSAV PCA	92	2,9
24	NMMC	F	31	10,10	82	S	DSAV	97	1,7
25	LMS	F	4	4,90	61	S	CIV CIA	99	2,4
26	CILS	M	11	6,21	69	S	DSAV	92	1,3
27	JVMA	M	11	6,42	71	S	DSAV PCA	97	2,7
28	AAG	F	12	6,20	64	S	CIV CIA	99	1,6
29	GSS	F	9	7,13	69	S	CIV	98	1,4
30	CERA	M	9	6,24	66	N	CIV	99	4,5
31	SRL	F	32	9,37	79	S	CIV CIA	96	2,5
32	SVS	F	7	5,38	63	N	CIV	98	3,2
33	TMOM	F	8	5,43	61	N	CIV	97	2,2
34	MCS	M	24	9,00	79	N	CIV	99	1,2
35	LEQS	F	9	6,48	64	S	CIV	99	2,9
36	KPBS	M	7	4,00	60	N	CIV	98	3,4
37	RRG	F	5	5,64	62	S	DSAV	96	4,0
38	TDN	M	24	10,70	77	S	CIV	98	3,3
39	ASRA	F	32	10,38	88	S	CIV PCA	98	1,8
40	ASNA	F	14	6,40	67	S	DSAV	96	1,5
Mediana		M	11	6,41	69	S	DSAV	97	2,3
P25 e P75 ou %		27,5%	(8 -16)	(5,77 – 7,84)	(63-75)	63%	40%	(94 -98)	(1,8 – 3,2)

CIA, comunicação interatrial; CIV, comunicação interventricular; DSAV, defeito septal atrioventricular; PCA, persistência do canal arterial; Qp/Qs, razão entre fluxos sanguíneos pulmonar e sistêmico; Sat. O_2, saturação periférica de oxigênio.

Quanto aos elementos classicamente associados à gravidade e precocidade das alterações vasculares pulmonares nesta população, os seguintes achados merecem ser destacados: nove pacientes (22,5%) com idade acima de 18 meses; 25 pacientes (63,0%) com síndrome de Down; sete pacientes (17,5%) com saturação periférica de oxigênio entre 90% e 93%; três casos com saturação periférica de oxigênio abaixo de 90% e 16 indivíduos (40,0%) com diagnóstico de defeito do septo atrioventricular.

4.2.2 Estado congestivo e comprometimento do desenvolvimento ponderal

Crianças portadoras de cardiopatias congênitas, principalmente relacionadas à presença de hiperfluxo pulmonar, costumam cursar com dificuldade de ganho ponderal. A maioria dos pacientes incluídos neste estudo apresentou peso abaixo do esperado para a idade conforme demonstrado na Figura 9. Paralelamente ao baixo ganho ponderal, a maioria deles, apresentou algum grau de dispneia e histórico clínico de infecções respiratórias de repetição atribuíveis à aumento do fluxo sanguíneo pulmonar com congestão. Por outro lado, houve também pacientes em que os dados da história clínica e exame físico não apontaram na direção de aumento do fluxo sanguíneo com congestão pulmonar, sugerindo elevação da resistência arterial naquele território (Figura 10).

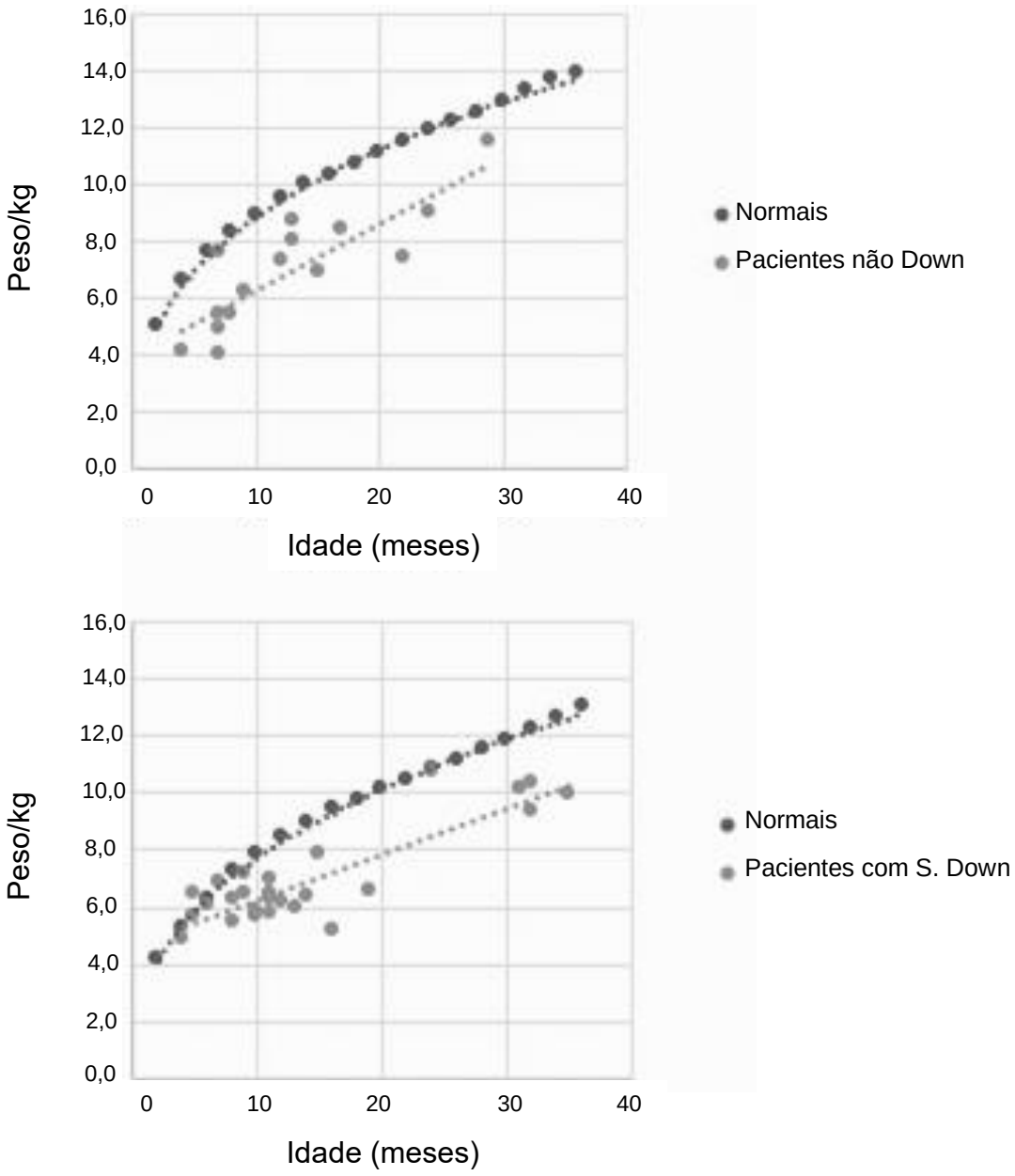


Figura 9 – Gráficos representativos do peso em relação à idade demonstrando situações de deficit ponderal. O primeiro gráfico representa pacientes não portadores da síndrome de Down. A curva de normalidade, linha superior, corresponde a valores medianos oferecidos pela Organização Mundial da Saúde. O segundo gráfico representa indivíduos portadores da síndrome de Down. A linha superior, corresponde a valores medianos para não cardiopatas, conforme referência sugerida pela Sociedade Brasileira de Pediatria para portadores de Síndrome de Down [106].

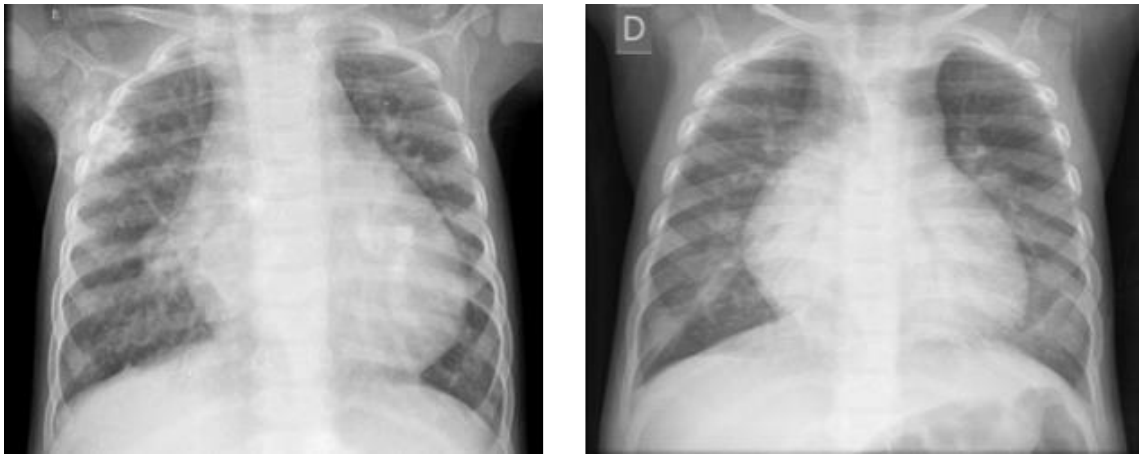


Figura 10 – Radiogramas de tórax representando dinâmicas cardiopulmonares distintas. À esquerda, paciente com idade de 7 meses, peso 5,5 kilogramas, com comunicações interatrial e interventricular, e persistência do canal arterial, apresentando aumento importante de área cardíaca e circulação pulmonar, com aspecto de congestão. À direita, paciente portador da síndrome de Down, 14 meses, peso 6,4 kilogramas com diagnóstico de defeito do septo atrioventricular. Observa-se aumento menos expressivo do coração e da vascularidade pulmonar, sugerindo aumento da resistência arterial naquele território.

4.2.3 Dados funcionais obtidos pela ecocardiografia transtorácica

Os dados ecocardiográficos do período pré-operatório encontram-se dispostos na Tabela 3. Além da análise anatômica pormenorizada do defeito cardíaco congênito, a ecocardiografia forneceu dados que expressaram a função ventricular direita e características da circulação pulmonar. Devido às limitações da própria cardiopatia ou do método utilizado, não foi possível a obtenção de todas as variáveis para todos os pacientes. Observa-se, pela análise dos dados expressos na Tabela 2, que 25% dos pacientes apresentaram valores de Qp/Qs acima de 3,2 e VTI_{VP} acima de 25 cm, sendo estes achados considerados como aumento expressivo do fluxo sanguíneo pulmonar [99]. Por outro lado, houve também situações em que não foi identificado o hiperfluxo pulmonar, sendo que em 25% dos pacientes o Qp/Qs estava abaixo de 1,8 e o VTI_{VP} abaixo de 20 cm, sugerindo aumento da resistência vascular pulmonar. Com relação às variáveis

que refletem o desempenho do ventrículo direito, os valores de *fractional area change* (FAC), índice de desempenho (*performance)* miocárdico (IPM) e excursão sistólica do anel tricuspídeo (TAPSE) encontraram-se dentro dos níveis de normalidade, indicando que, de um modo geral, a função ventricular direita estava preservada no período pré-operatório. A variável *strain* longitudinal de pico sistólico do ventrículo direito foi avaliada em 12 pacientes. Destes, nove apresentaram valores abaixo do considerado normal para crianças saudáveis[103]. Vale ressaltar que os valores reduzidos desta variável podem estar relacionados às características anatômicas da cardiopatia, o que representa uma limitação na avaliação da mecânica ventricular direita.

4.2.4 Medidas hemodinâmicas invasivas

Dois pacientes apresentaram sinais sugestivos de aumento importante da resistência vascular pulmonar e tiveram indicação clínica para a obtenção de medidas hemodinâmicas de forma invasiva. O primeiro corresponde ao paciente de número 1 e o segundo ao paciente de número 20 conforme representados na Tabela 1. As medidas hemodinâmicas obtidas foram respectivamente as seguintes: pressão média de artéria pulmonar 56 e 48 mmHg; resistência vascular pulmonar indexada 7,70 e 5,76 unidades Wood x m^2; razão entre a resistência vascular pulmonar e sistêmica 0,37 e 0,23. Conforme protocolo institucional, estes pacientes foram submetidos ao uso pré-operatório do inibidor da fosfodiesterase 5, sildenafila, com o objetivo de promover melhores resultados evolutivos [12].

Tabela 3 – Dados ecocardiográficos do período pré-operatório

Variáveis ecocardiográficas	N	Mínimo	Máximo	Mediana	Percentil 25	Percentil 75
PSVD (mmHg)	20	27,0	103,0	75,0	52,0	86,0
PMAP (mmHg)	23	12,0	64,0	48,0	34,0	54,0
Qp/Qs	40	1,2	4,6	2,3	1,8	3,2
VTI_{VP} (cm)	40	13,0	32,0	21,5	20,1	25,0
FAC (%)	34	32,0	68,0	45,5	39,0	50,0
TAPSE (escore Z)	40	-3,67	3,84	0,50	-1,60	1,93
Strain longitudinal de pico sistólico, VD (%)	12	18,0	31,5	21,0	19,0	28,4
IPM, VD	32	0,28	0,72	0,46	0,41	0,52

FAC, *fractional area change*; IPM VD, índice de desempenho (*performance)* miocárdico de ventrículo direito; PMAP, pressão média da artéria pulmonar; PSVD, pressão sistólica do ventrículo direito; Qp/Qs, razão entre fluxos sanguíneos pulmonar e sistêmico; TAPSE, excursão sistólica do anel tricuspídeo (medida de função ventricular direita); VTI_{VP}, integral velocidade-tempo do fluxo sanguíneo em veias pulmonares (medida indireta do fluxo pulmonar).

São considerados valores normais para as variáveis: PSVD $\leq$ 30mmHg; PMAP $\leq$ 20mmHg[8]; FAC $\geq$ 35%[108]; IPM VD $\leq$ 0,55[108]. São considerados como aumento expressivo do ponto de vista hemodinâmico valores de Qp/Qs superiores a 2,89 e VTI_{VP} acima de 24 cm, conforme estudo desenvolvido em nossa Instituição[99]. O valor normal médio considerado para o *strain* longitudinal de pico sistólico de VD em crianças não cardiopatas é de 29% (intervalo de confiança de 95%, 26,54 - 31.5)[103]. Valores abaixo de 20% são considerados anormais. TAPSE, valores de referência definidos para diferentes idades, sendo calculado o escore Z para cada indivíduo[101].

4.2.5 Dados hematológicos de rotina pré-operatória

Os dados laboratoriais hematológicos habitualmente investigados no período pré-operatório encontram-se dispostos na Tabela 4. Observa-se que as variáveis, em sua maioria, apresentaram-se dentro dos limites considerados normais para a idade.

Tabela 4 - Dados hematológicos do período pré-operatório

Exames laboratoriais	N	Mín	Máx	Mediana	P25	P75	Valores de referência*
Eritrócitos (x10^6/mm^3)	40	3,5	5,0	4,5	4,2	5,0	3,7 a 6,0
Hemoglobina (g/dL)	40	8,5	15,8	12,1	11,4	12,8	10,3 a 14,0
Hematócrito (%)	40	28	47	36	34	39	33 a 44
Leucócitos (por mm^3)	40	4950	15660	10785	7140	12055	6000 a 15000
Plaquetas (x10^9/L)	40	137	551	322	272	371	140 a 450
VPM (fL)	39	8,4	11,5	9,5	9,0	10	6,5 a 12
PCR (mg/L)	30	0,42	11,00	2,07	1,22	4,56	< 5,00

PCR, proteína C reativa; P25 e P75, respectivamente, percentis 25 e 75; VPM, volume plaquetário médio.
* Valores de referência fornecidos pelo Laboratório de Análises Clínicas do Instituto do Coração, Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo.

4.2.6 Procedimentos e registros durante o ato operatório

Todos os pacientes foram submetidos a cirurgia corretiva com uso de circulação extracorpórea. O tempo da mesma variou de 66 a 218 minutos (120 [90 – 152], mediana e percentis 25 e 75) e o tempo de anóxia de 45 a 170 minutos (96 [66 – 124]) e não foram apontadas dificuldades em sua retirada, relacionadas ao aumento da pressão arterial pulmonar. Quanto ao uso de hemoderivados, 93% dos pacientes receberam concentrado de hemácias no início da circulação extracorpórea, para o preenchimento do circuito; a quantidade mediana foi de 34 mL/kg (25 – 43 mL/kg). Durante o ato cirúrgico, os pacientes foram submetidos à hipotermia moderada de 29,9°C (28,9 – 31,5 °C) e, ao término do procedimento, foram reaquecidos à temperatura de 36,6°C (36,5 – 36,7°C). Em relação à solução cardioplégica, três tipos foram utilizados: 52,5%

dos pacientes receberam cardioplegia sanguínea (*St. Thomaz*); 42,5% receberam Custodiol® e a solução de Del Nido® foi usada em 5% dos casos. Referente à protamina, medicamento necessário para reverter o efeito da heparina utilizada para anticoagulação, a quantidade administrada foi de 11 mg/kg (10 – 14 mg/kg). Ao final da circulação extracorpórea, todos os pacientes foram submetidos à ultrafiltração pelo tempo de dez minutos e o volume retirado foi de 60,5 mL/kg (41,3 – 70,6 mL/kg). Após a ultrafiltração foi realizada a ecocardiografia transesofágica para avaliação da função ventricular direita e esquerda, os valores obtidos para FAC e fração de ejeção do ventrículo esquerdo foram respectivamente 50% (45 - 57%) e 64 % (59 - 66%). Ao término do ato cirúrgico, a totalidade dos indivíduos necessitou de um ou mais fármacos vasoativos para manutenção dos parâmetros de microcirculação, pressão arterial sistêmica e pulmonar em níveis ideais, sendo a combinação mais comum, adrenalina e milrinone, presente em 85% dos casos. Com o objetivo de evitar instabilidade do tônus vascular pulmonar, os pacientes foram encaminhados à unidade de terapia intensiva recebendo óxido nítrico inalado na dose de 20 ppm. Os dados individuais das variáveis relacionadas ao período intra-operatório encontram-se dispostas no Anexo C . As pressões em artéria pulmonar e aorta (sistêmica) foram verificadas de maneira direta pelo posicionamento de cateteres nestes vasos, imediatamente antes e após a circulação extracorpórea. A pressão média em artéria pulmonar foi 32 mmHg (26 – 36 mmHg) e 22 mmHg (18 – 26 mmHg) ($p < 0,001$) respectivamente; a pressão média arterial sistêmica foi 46 mmHg (40 – 54 mmHg) e 53 mmHg (49 – 59 mmHg) respectivamente, ($p < 0,001$). Os dados hemodinâmicos do período intra-operatório encontram-se representados na Figura 11.

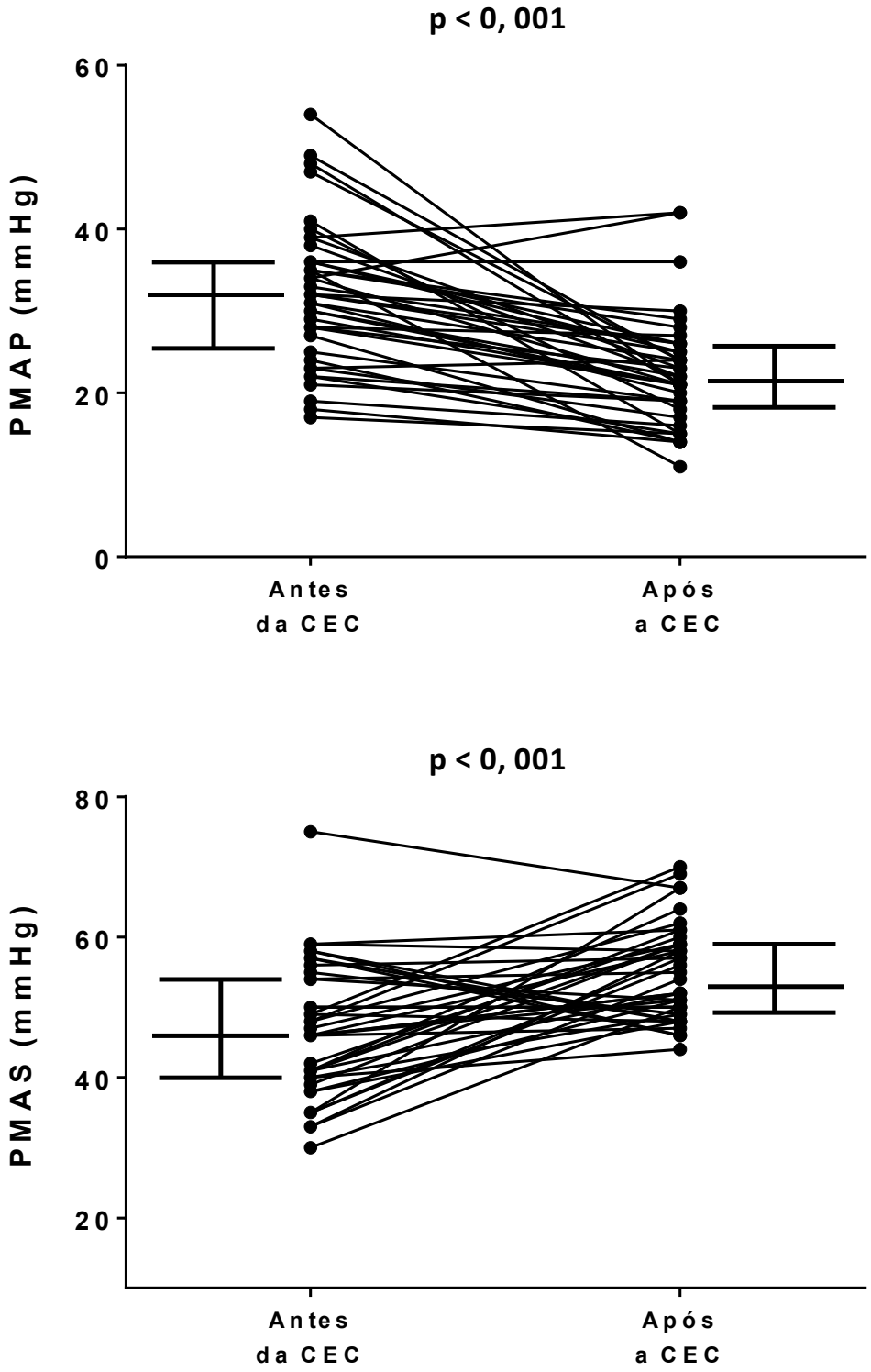


Figura 11 – Pressão média arterial pulmonar (PMAP) e sistêmica (PMAS) imediatamente antes e após a circulação extracorpórea (CEC). Os gráficos em barra representam a mediana e intervalos interquartílicos (P25 e P75).
Para comparação entre as medidas pareadas foi utilizado o teste de Wilcoxon.

4.2.7 Aspectos evolutivos do período pós-operatório

Todos os pacientes, no período pós-operatório imediato e mediato, permaneceram sedados, em ventilação mecânica e em uso de óxido nítrico inalado, com o objetivo de se manter tanto quanto possível estabilidade pulmonar. Apesar de todos os cuidados e precauções no manejo dos pacientes no período pós-operatório, 11 deles (27,5%), apresentaram alterações clínicas e hemodinâmicas de suficiente gravidade para serem caracterizadas como *Evento Cardiorrespiratório e Hemodinâmico Relevante (ECRHR)*. O período sob ventilação mecânica variou de 1 a 32 dias, com mediana de 8 dias (7 - 11 dias). Os ECRHR contribuíram para períodos de ventilação mecânica prolongados (> 7 dias em 22 pacientes), mas não para mortalidade. Outras causas que colaboraram para o tempo prolongado sob ventilação mecânica foram complicações infecciosas, distúrbios respiratórios, arritmias e convulsões. O tempo de permanência dos pacientes sob cuidados intensivos e intermediários variou de 7 a 38 dias, com mediana de 14 dias (11 - 21 dias) e o tempo total de internação hospitalar após a correção cirúrgica foi de 10 a 64 dias com mediana de 27 dias (21 - 35 dias). Quanto aos óbitos, duas pacientes (número 23 e 28) evoluíram para desfecho fatal no décimo e no oitavo dia após a correção cirúrgica, respectivamente. Nenhuma delas apresentou ECRHR e as causas de óbitos estiveram relacionadas a complicações infecciosas (choque séptico, com evolução para falência de múltiplos órgãos e parada cardíaca). A Tabela 5 expõe os dados individuais relacionados ao período pós-operatório.

Tabela 5 – Dados do período pós-operatório

Pacientes		Dias sob ventilação mecânica invasiva	Dias sob cuidados intensivos / intermediários	Dias de internação após a cirurgia	ECRHR
Nº	Identificação				Sim /Não
1	IRGS	05	14	25	N
2	NAF	18	31	64	S
3	VHA	08	21	28	N
4	LBS	01	07	10	N
5	EBES	13	29	43	S
6	YVHC	08	15	22	N
7	AAF	11	17	25	S
8	PVS	03	07	11	N
9	LAM	07	13	27	S
10	SBF	07	13	22	N
11	LGOS	12	35	58	S
12	LCHOSS	07	18	24	N
13	MHSAV	04	08	22	N
14	SVC	32	38	49	S
15	IRF	06	08	20	N
16	PHR	15	28	30	S
17	KAO	15	21	28	S
18	MMS	07	10	18	N
19	MEGSC	10	23	37	N
20	KSO	11	23	36	S
21	MJS	07	12	23	N
22	VOS	13	21	36	N
23*	GSB	05	10	10	N
24	NMMC	10	14	36	N
25	LMS	08	13	23	N
26	CILS	09	25	46	N
27	JVMA	10	14	29	N
28*	AAG	08	08	08	N
29	GSS	11	16	27	N
30	CERA	07	13	27	N
31	SRL	23	37	63	S
32	SVS	12	16	27	N
33	TMOM	07	14	23	N
34	MCS	06	09	17	N
35	LEQS	06	11	20	N
36	KPBS	07	16	35	N
37	RRG	07	19	29	N
38	TDN	08	13	21	S
39	ASRA	05	11	21	N
40	ASNA	07	14	27	N
Mediana		**08**	**14**	**27**	**S: 11**
P25 e P75		**(7 – 11)**	**(11 – 21)**	**(21 – 35)**	

ECRHR*, Evento Cardiorrespiratório e Hemodinâmico Relevante,* definido como alterações relevantes e concomitantes na circulação pulmonar e sistêmica, associadas à queda na saturação periférica de oxigênio, de gravidade suficiente para suscitar manobras de ressuscitação cardiopulmonar (bradicardia manifesta), ou de duração prolongada (mais de uma hora), ou ainda, de caráter sub entrante, repetitivo ao longo do período (manhã, tarde, noite) requerendo vários acertos de drogas vasoativas entre outras medidas.

*Os pacientes de número 23 e 28 foram a óbito no 10º e 8º dias após a cirurgia, respectivamente.

4.2.8 Dados hematológicos e de microcirculação do período pós-operatório inicial

Os dados laboratoriais referentes a índices hematológicos relacionados a inflamação e microcirculação dos pacientes nas primeiras 48 horas após a correção cirúrgica, bem como o *Vasoactive Inotropic Score* (VIS), encontram-se dispostos na Tabela 6. É possível observar um aumento significante dos níveis de linfócitos e monócitos. A razão neutrófilo/linfócito, considerada como um marcador de gravidade para algumas patologias, inclusive no período pós-operatório de correções cardíacas pediátricas[109], mostrou-se elevada no início com uma tendência a diminuição posterior. Observa-se também um aumento progressivo no volume plaquetário médio (VPM) e um aumento bastante expressivo da proteína C reativa (PCR), não atribuído a processo infeccioso. O nível de bicarbonato de sódio esteve dentro dos limites de normalidade no período pós-operatório imediato, evoluindo com um aumento progressivo. Ao contrário do bicarbonato, o nível de lactato esteve aumentado no pós-operatório imediato e normalizou-se no primeiro e segundo dia do período pós-operatório. A saturação venosa central de oxigênio, parâmetro utilizado para avaliar a adequada oferta de oxigênio aos tecidos, manteve-se dentro dos níveis de normalidade nas primeiras 48 horas após a cirurgia. Em relação ao VIS, variável que estima a quantidade de drogas vasoativas, o mesmo teve o valor mais baixo mensurado no pós-operatório imediato, apresentando aumento significante nos dois dias seguintes.

Tabela 6 – Dados hematológicos, parâmetros de microcirculação e escore de drogas vasoativas no período pós-operatório inicial

Variáveis	Pós-operatório imediato	Primeiro dia após a cirurgia	Segundo dia após a cirurgia	p
Leucócitos, k/μL	14,06 (11,02 – 17,66)	14,17 (11,86 – 18,09)	14,75 (12,13 – 20,19)	0,302
Linfócitos, k/μL	1,70 [a] (1,02 – 2,41)	1,87 [ab] (1,22 – 2,23)	2,37 [b] (1,51 – 2,98)	0,018
Monócitos, k/μL	1,03 [a] (0,73 – 1,48)	1,47 [b] (0,86 – 1,93)	1,34 [ab] (0,85 – 1,81)	0,005
Neutrófilos, k/μL	10,59 (8,28 – 13,86)	10,64 (8,35 – 13,66)	10,97 (7,61 – 15,29)	0.828
Razão neutrófilo/ linfócito	6,83 (4,06 – 10,88)	5,92 (4,28 – 9,25)	5,07 (2,94 – 9,13)	0,062
Plaquetas, k/μL	141 [a] (118 – 170)	136 [b] (110 – 164)	138 (107 – 178)	0,788
VPM, fL	9,40 (8,85 – 9,90)	10,00 (9,40 – 10,40)	10,30 [b] (9,75 – 10,70)	< 0,001
PCR, mg/L	2,88 [a] (1,78 – 3,76)	69,50 [b] (53,80 – 81,80)	136,19 [c] (108,24 – 201,06)	< 0,001
Lactato, mg/L	20,5 [a] (15,3 – 30,8)	12,0 [b] (9,0 – 15,5)	12,0 [b] (11,0 – 15,8)	< 0,001
BIC, mmoL	22,2 [a] (20,8 – 23,8)	25,5 [b] (23,6 – 27,1)	27,6 [b] (25,7 – 30,7)	< 0,001
$SvcO_2$, %	79,9 (71,2 – 85,7)	78,7 (71,1 – 84,4)	73,0 (65,6 – 82,0)	0,58
VIS	15 [a] (9 – 28)	22 [b] (11 – 43)	22 [b] (11 – 35)	0,002

Os resultados estão expressos em mediana, percentis 25 e 75. As diferenças foram analisadas com o uso do Teste de Friedman, seguida de comparações *Post Roc*. Valores não compartilhando a mesma letra são significantemente diferentes.

BIC, bicarbonato de sódio; PCR, proteína C reativa; $SvcO_2$, saturação venosa central de oxigênio; VIS, *Vasoactive Inotropic Score*; VPM, volume plaquetário médio.

Valores de referência fornecidos pelo Laboratório de Análises Clínicas do Instituto do Coração, Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo: BIC, 20,0 – 24,0 mmoL; Lactato, 4,0 – 14,0 mg/L; Leucócitos, 6,00 – 15,00 k/μL; Linfócitos, 1,5 – 7,0 k/μL; Monócitos, 0 – 0,8 k/μL; Neutrófilos, 6,00 – 8,00 k/μL; Plaquetas,150 – 450 k/μL; PCR, <5 mg/L; $SvcO_2$, 60 – 85%.

Razão neutrófilo/ linfócito, 0,78 – 3,53, valores considerados segundo referência [110].

4.3 Análise inferencial

4.3.1 Situação hemodinâmica imediatamente após a cirurgia

A situação hemodinâmica observada nas primeiras seis horas após a cirurgia trouxe elementos que correlacionaram tanto com os dados obtidos no centro cirúrgico como com a evolução clínica dos pacientes nos três dias subsequentes à cirurgia. Esta associação foi baseada na razão entre pressão pulmonar e pressão sistêmica, mais especificamente entre a pressão média arterial pulmonar e a pressão média arterial sistêmica (PMAP/PMAS). O foco inicial da análise esteve nas quatro primeiras medidas obtidas com intervalos de duas horas na unidade de terapia intensiva. Assim sendo, foi calculado um valor médio para estas quatro medidas, para cada paciente. Esta variável foi caracterizada como $PMAP/PMAS_{POI}$. A Figura 12 demonstra como a variável $PMAP/PMAS_{POI}$ guardou relação com a condição hemodinâmica do paciente no centro cirúrgico e nos dois a três dias do período pós-operatório.

Com base na variável $PMAP/PMAS_{POI}$, os pacientes foram categorizados em dois grupos: aqueles com valores iguais ou inferiores a 0,40 e aqueles acima deste nível. Inicialmente, este valor de corte foi estabelecido por conveniência, uma vez que resultava em grupos de tamanhos próximos: $PMAP/PMAS_{POI} \leq 0,40$, com 22 pacientes; $PMAP/PMAS_{POI} > 0,40$, com 18 indivíduos. Posteriormente, o mesmo demonstrou-se estratégico na predição de ECRHR a partir da variável $PMAP/PMAS_{POI}$. Outros valores de corte foram testados, mas não se demonstraram adequados nem na obtenção de grupos de tamanhos equivalentes, nem na predição de eventos.

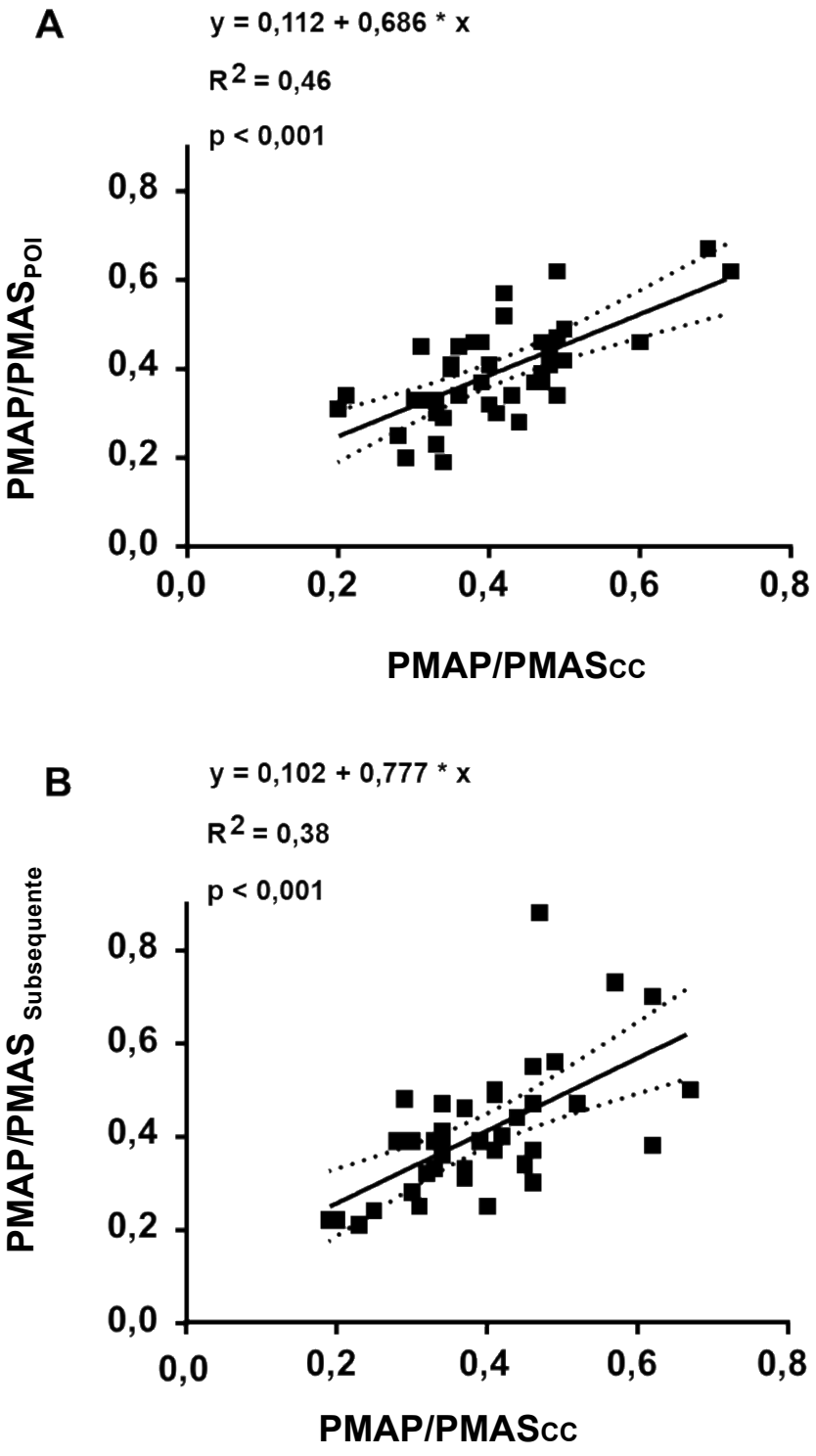
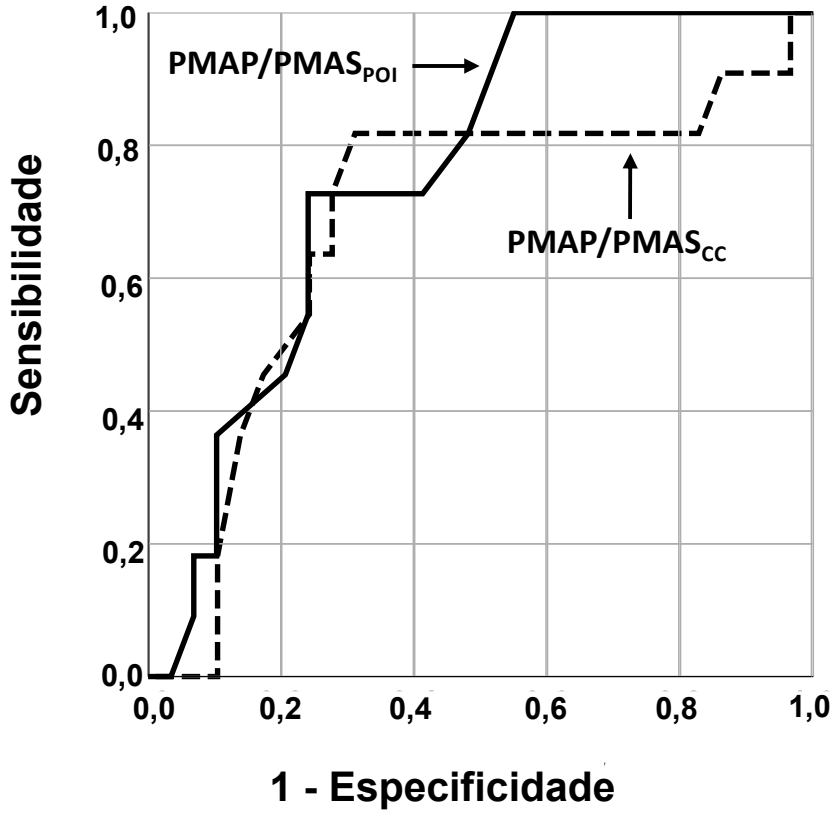


Figura 12 - Relação entre situações hemodinâmicas em diferentes momentos. Em A, situação hemodinâmica do paciente nas seis primeiras horas de tratamento intensivo ($PMAP/PMAS_{POI}$, razão entre pressão média arterial pulmonar e sistêmica, valor médio de quatro medidas) em função daquela observada no centro cirúrgico, logo após a finalização da circulação extracorpórea ($PMAP/PMAS_{CC}$). Em B, situação hemodinâmica nos dois dias e meio subsequentes (PMAP/PMAS subsequente, valor médio de 27 determinações), em função daquela observada no início do período pós-operatório.

Os parâmetros hemodinâmicos observados no início do período de cuidados intensivos tiveram associação importante com a ocorrência de eventos nos dias que se seguiram. Ressalte-se que a variável PMAP/$PMAS_{POI}$ caracterizou-se como melhor preditor dos ECRHR, mostrando-se superior aos dados pressóricos obtidos no centro cirúrgico (PMAP/$PMAS_{CC}$). A Figura 13 mostra curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*) onde essas variáveis foram estudadas como preditores.



Evento		Sensibilidade %	Especificidade %	Área sob a curva	IC 95% Limite inferior	IC 95% Limite superior	p
PMAP/$PMAS_{CC}$	>0,41	73	72	0,688	0,488	0,888	0,069
PMAP/$PMAS_{POI}$	>0,40	73	76	0,757	0,606	0,908	0,013

Figura 13 – Razão entre a pressão média arterial pulmonar e pressão média arterial sistêmica (PMAP/PMAS) na predição de *Eventos Cardiorrespiratórios e Hemodinâmicos Relevantes.* PMAP/$PMAS_{CC}$ e PMAP/$PMAS_{POI}$, variáveis obtidas respectivamente, no centro cirúrgico e no início do período de cuidados intensivos. São apresentados valores de corte e outros dados obtidos a partir da análise das curvas ROC.

4.3.2 Evolução hemodinâmica e oximétrica nos grupos considerados

A Figura 14 representa a evolução hemodinâmica e oximétrica nos grupos com $PMAP/PMAS_{POI} \leq 0,40$ *versus* > 0,40. Os dados foram registrados na unidade de cuidados intensivos, com intervalos de duas horas, por um período de dois dias e meio. Foi possível observar que os indivíduos com $PMAP/PMAS_{POI}$ > 0,40 mantiveram níveis de pressão média arterial pulmonar superiores aos demais, por todo o período de monitorização. A pressão média arterial sistêmica não foi diferente entre os grupos, enquanto a saturação periférica de oxigênio teve tendência a níveis inferiores, em indivíduos com $PMAP/PMAS_{POI}$ > 0,40, durante as primeiras 36 horas. Os pacientes com $PMAP/PMAS_{POI}$ > 0,40 tiveram grande variabilidade da pressão média arterial pulmonar e da saturação periférica de oxigênio quando comparados àqueles com $PMAP/PMAS_{POI} \leq 0,40$.

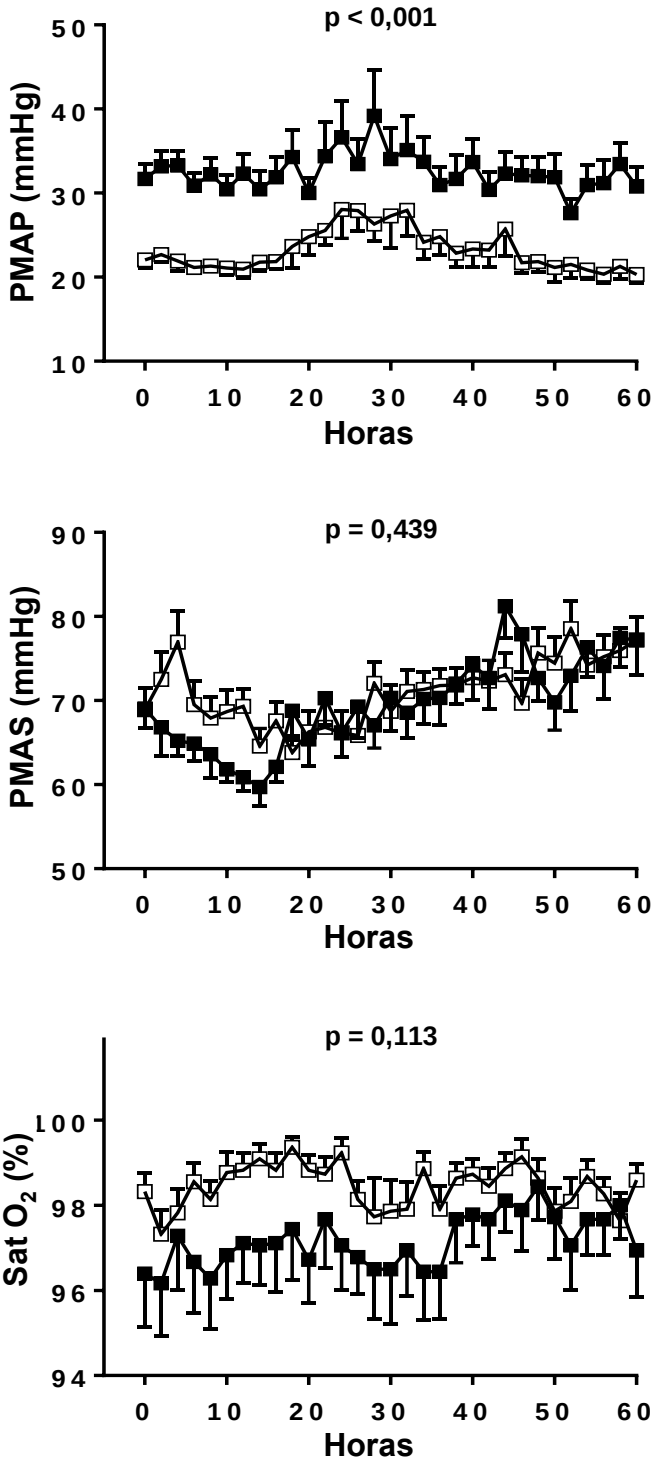


Figura 14 – Evolução hemodinâmica e oximétrica nos grupos caracterizados de acordo com a razão entre a pressão média arterial pulmonar e a sistêmica, no início do período pós-operatório ($PMAP/PMAS_{POI}$). PMAP, PMAS e Sat O_2, respectivamente, pressão média arterial pulmonar, pressão média arterial sistêmica e saturação periférica de oxigênio, avaliadas a cada duas horas por dois dias e meios consecutivos. Os dados são apresentados como média e erro padrão. Os quadrados vazios e os quadrados sólidos representam, respectivamente, pacientes com $PMAP/PMAS_{POI} \leq 0,40$ e $> 0,40$, respectivamente.

4.3.3 Aspectos da resposta inflamatória

4.3.3.1 Dados hematológicos comparativos nos momentos pré e pós-operatório

A comparação dos dados hematológicos entre os períodos pré e pós-operatórios encontram-se demonstrados na Tabela 7. No período pós-operatório foi observada diminuição na contagem de linfócitos enquanto houve aumento no nível circulante de monócitos e neutrófilos. Consequentemente a razão entre neutrófilos e linfócitos mostrou-se aumentada. Foi observado também declínio na contagem de plaquetas e aumento no volume plaquetário médio e na proteína C reativa.

Tabela 7 - Dados hematológicos nos momentos pré e pós-operatório

Variáveis	Período pré-operatório	Período pós-operatório			p
		4 horas	24 horas	48 horas	
Leucócitos, k/µL	11,04 (7,14 – 12,21)	14,06 † (11,02 – 17,66)	14,17 † (11,86 – 18,09)	14,75 † (12,13 – 20,19)	< 0,001
Linfócitos, k/µL	4,66 (3,66 – 7,76)	1,70 † (1,02 – 2,41)	1,87 † (1,22 – 2,23)	2,37 † (1,51 – 2,98)	< 0,001
Neutrófilos, k/µL	3,33 (2,00 – 4,91)	10,59 † (8,28 – 13,86)	10,64 † (8,35 – 13,66)	10,97 † (7,61 – 15,29)	< 0,001
Razão neutrófilo/ linfócito	0,57 (0,35 – 1,05)	6,83 † (4,06 – 10,88)	5,92 † (4,28 – 9,25)	5,07 † (2,94 – 9,13)	< 0,001
Monócitos, k/µL	0,71 (0,50 – 1,04)	1,03 † (0,73 – 1,48)	1,47 † (0,86 – 1,93)	1,34 † (0,85 – 1,81)	< 0,001
Plaquetas, k/µL	329 (272 – 390)	141 † (118 – 170)	136 † (110 – 164)	138 † (107 – 178)	< 0,001
VPM, fL	9,50 (9,00 – 10,00)	9,40 (8,85 – 9,90)	10,05 ‡ (9,45 – 10,40)	10,30 ‡ (9,75 – 10,70)	< 0,001
PCR, mg/L	2,07 (1,17 – 4,57)	2,88 (1,78 – 3,76)	69,50 † (53,80 – 81,80)	136,19 † ((108,24 – 201,06)	< 0,001

Os resultados estão expressos em mediana, percentis 25 e 75. As diferenças foram analisadas com o uso do Teste de Friedman.
† e ‡, respectivamente, p < 0,001 e < 0,01 *versus* pré-operatório (*post hoc* múltiplas comparações); PCR, proteína C reativa; VPM, volume plaquetário médio.

4.3.3.2 Marcadores inflamatórios e comportamento hemodinâmico

Os níveis pré-operatórios dos marcadores inflamatórios investigados neste estudo não diferiram significantemente entre pacientes e controles. A única exceção foi a quimiocina RANTES, que apresentou níveis mais elevados no grupo de pacientes. Os dados referentes aos valores basais das proteínas inflamatórias em pacientes e controles estão demonstrados na Tabela 8.

Tabela 8 – Níveis séricos pré-operatórios das proteínas inflamatórias

	Controles (n = 37)	Pacientes (n = 40)	p		Controles (n = 37)	Pacientes (n = 40)	p
C5/C5a	1392 (804-3756)	2442 (1027-3980)	0,209	**IL-13**	509 (294-1090)	654 (311-1256)	0,492
CD40L	4353 (2670-7079)	5233 (2871-7770)	0,677	**IL-16**	521 (276-1116)	568 (262-1240)	0,749
G-CSF	347 (198-603)	560 (245-867)	0,120	**IL-17**	257 (146-450)	300 (190-556)	0,204
GM-CSF	293 (146-356)	343 (168-492)	0,450	**IL-17E**	344 (183-565)	407 (224-786)	0,173
GROα	1712 (1315-2578)	1770 (1204-2866)	0,824	**IL-27**	221 (134-411)	304 (173-422)	0,401
I-309	636 (318-802)	674 (255-1210)	0,301	**IL-32α**	470 (220-980)	447 (257-990)	0,993
ICAM-1	38777 (30494-49330)	39756 (29716-48504)	0,847	**IP-10**	646 (246-1185)	827 (432-1941)	0,052
IFN-γ	269 (168-389)	329 (190-438)	0,434	**I-TAC**	522 (243-989)	706 (309-1024)	0,459
IL-1α	363 (169-589)	423 (208-712)	0,407	**MCP-1**	345 (261-637)	491 (238-876)	0,319
IL-1β	191 (100-386)	185 (116-515)	0,766	**MIF**	6339 (5432-6838)	5677 (4635-7169)	0,444
IL-1RA	1407 (759-2276)	1571 (605-2493)	0,903	**MIP-1α/β**	409 (232-580)	601 (249-914)	0,093
IL-2	268 (119-415)	324 (121-511)	0,378	**Serpin E1**	44804 (40018-51686)	46656 (35898-61188)	0,670
IL-4	276 (179-444)	344 (208-510)	0,333	**RANTES**	58061 (47531-65624)	66140 (53982-76405)	0,012
IL-5	98 (56-198)	94 (76-226)	0,601	**SDF-1**	3892 (3250-5036)	4251 (3323-5967)	0,419
IL-6	560 (260-983)	301 (192-718)	0,197	**TNFα**	260 (144-473)	342 (151-629)	0,508
IL-8	202 (138-396)	282 (155-509)	0,272	**sTREM-1**	264 (151-543)	381 (235-595)	0,312
IL-10	276 (132-399)	277 (197-490)	0,809	**IL-18**	874 (500-1718)	951 (527-1602)	0,909
IL-12p70	243 (119-465)	261 (142-443)	0,612	**IL-21**	401 (185-612)	379 (253-789)	0,512

Os níveis séricos de todas as proteínas são apresentados em pixels, unidade de intensidade (quimioluminescência). Os dados estão apresentados em mediana e intervalo interquartílico. As diferenças foram analisadas usando o modelo linear geral após transformação Box-Cox das variáveis dependentes.

Os marcadores inflamatórios foram analisados buscando diferenças ao longo do tempo, isto é, comparativamente em três momentos, situação basal, quatro e 24 horas após a cirurgia, e entre os grupos definidos sob aspectos hemodinâmico ($PMAP/PMAS_{POI} < 0,40$ e $PMAP/PMAS_{POI} > 0,40$). Todos os marcadores inflamatórios analisados encontram-se dispostos no Anexo D. Horizontalmente, considerando-se os três momentos de observação, diversos marcadores modificaram-se significantemente em ambos os grupos. Por exemplo, IL-1 RA teve elevação importante quatro horas após a circulação extracorpórea em comparação à situação basal, e declinou a seguir (24h após a cirurgia). Padrão similar foi observado em outras proteínas como IL-6 e IL-16. De outra forma, os valores de CD40L, GROα, Serpina E1, RANTES e SDF-1 diminuíram a partir da condição pré-operatória. O nível sérico de CD40L correlacionou positivamente com a contagem de plaquetas antes da cirurgia ($r = 0,41$, $p = 0,012$), quatro e 24 horas após a circulação extracorpórea (respectivamente, $r = 0,35$, $p = 0,035$ e $r = 0,41$, $p = 0,011$). Ademais, houve correlação negativa entre o nível sérico de RANTES e o uso de drogas vasoativas calculadas pelo VIS ($r = -0,57$, $p < 0,001$ e $r = -0,043$, respectivamente, quatro e 24 horas após circulação extracorpórea). Em relação à análise comparativa entre os grupos hemodinâmicos, foram verificadas diferenças significantes em cinco marcadores inflamatórios, sendo eles, G-CSF, IL-1RA, IL-6, IL-21 e volume plaquetário médio, todos com níveis mais elevados no grupo $PMAP/PMAS_{POI} > 40$. Os dados referentes às comparações entre os três momentos e entre os dois grupos estão dispostos na Tabela 9. Os achados referentes aos cinco mediadores que apresentaram diferenças significantes entre os grupos encontram-se ilustrados na Figura 15.

Tabela 9 – Marcadores inflamatórios nos grupos hemodinâmicos, nos três momentos considerados no estudo

	PMAP/PMAS$_{POI}$ ≤ 0,40 (n = 22)			PMAP/PMAS$_{POI}$ > 0,40 (n = 18)			p	
	Pré-operatório	Pós-operatório		Pré-operatório	Pós-operatório		Entre os momentos	Entre grupos
		4h	24h		4h	24h		
CD40L	4310 (2740-8359)	1898 (1178-2993)	2307 (1585-4034)	5916 (3162-6983)	2142 (1263-5321)	2760 (1315-4373)	<0,001	0,873
G-CSF	391 (154-800)	814 (360-1397)	401 (247-619)	689 (294-923)	1234 (766-1949)	679 (343-1597)	<0,001	0,040
GROα	1588 (1269-2980)	1191 (684-1353)	741 (443-1476)	1796 (1189-2947)	1594 (683-2828)	1210 (646-1670)	<0,001	0,292
IL-1RA	1210 (518-2249)	13140 (9524-18184)	4662 (1770-6574)	1925 (1070-2633)	18853 (14058-21786)	7036 (4654-12461)	<0,001	0,020
IL-6	281 (141-637)	826 (368-1215)	601 (330-1071)	477 (225-1210)	2056 (1010-2839)	961 (450-2181)	<0,001	0,003
IL-8	279 (146-403)	292 (169-621)	227 (144-448)	317 (155-655)	511 (267-864)	269 (189-610)	0,014	0,167
IL-16	564 (261-1083)	1241 (1001-2715)	908 (349-1218)	578 (448-1518)	2768 (1529-3923)	1133 (635-2878)	<0,001	0,155
IP-10	904 (410-1808)	1466 (637-2723)	659 (166-1122)	824 (623-2033)	3186 (1015-4080)	702 (186-2109)	<0,001	0,305
MCP-1	381 (230-786)	447 (323-830)	364 (254-631)	560 (246-962)	881 (610-1269)	508 (241-1100)	0,002	0,178
MIF	5514 (4113-7055)	7117 (6604-9722)	5587 (3662-8508)	6078 (5192-7330)	9010 (7209-11057)	6753 (5465-8794)	<0,001	0,299
Serpin E1	44650 (35485-57863)	37559 (30688-46958)	34719 (27139-40310)	52910 (40782-62429)	44831 (32830-53588)	40841 (35076-51601)	<0,001	0,086
RANTES	64525 (50627-81348)	50828 (39911-78459)	46564 (36403-66291)	68037 (59861-74569)	51934 (42454-68576)	48699 (33868-60721)	<0,001	0,956
SDF-1	4123 (3615-6061)	3807 (2486-7486)	2668 (2098-4702)	4695 (3031-5795)	4797 (4031-7014)	3566 (2980-4947)	0,002	0,734
IL-21	338 (152-589)	349 (257-558)	321 (211-585)	658 (344-949)	562 (353-912)	479 (278-834)	0,181	0,047
VPM,fL	9,40 (8,65-9,80)	9,20 (8,65-9,85)	9,80 (9,20-10,30)	10,00 (9.30-10,85)	9,40 (9,05-10,00)	10,30 (9,75-10,85)	<0,001	0,018
RNL	0,54 (0,38-0,81)	6,83 (4,23-9,41)	5,14 (3,54-9,17)	0,77 (0,43-1,40)	6,50 (3,85-16,72)	7,09 (4,82-9,28)	<0,001	0,148
PCR, mg/L	2,62 (1,27-4,99)	2,05 (1,56-3,20)	61,99 (51,09-78,33)	1,54 (0,90-3,39)	3,05 (2,01-4,5)	69,12 (55,62-82,65)	<0,001	0,942

São apresentados somente os marcadores inflamatórios para os quais houve diferença significante entre os momentos e/ou entre os grupos.

Salvo especificações, os níveis dos marcadores são dados em *pixels*, unidades de intensidade (quimioluminescência).

Os resultados estão apresentados em mediana e intervalos interquartílicos (P25 e P75).

Os dados foram analisados, após transformação Box-Cox, usando o modelo linear geral para medidas repetidas.

PMAP/PMAS$_{POI,}$ razão entre a pressão média arterial pulmonar e a sistêmica, no início do período pós-operatório; PCR, proteína C reativa; RNL, razão entre número de neutrófilos e linfócitos em circulação; VPM, volume plaquetário médio.

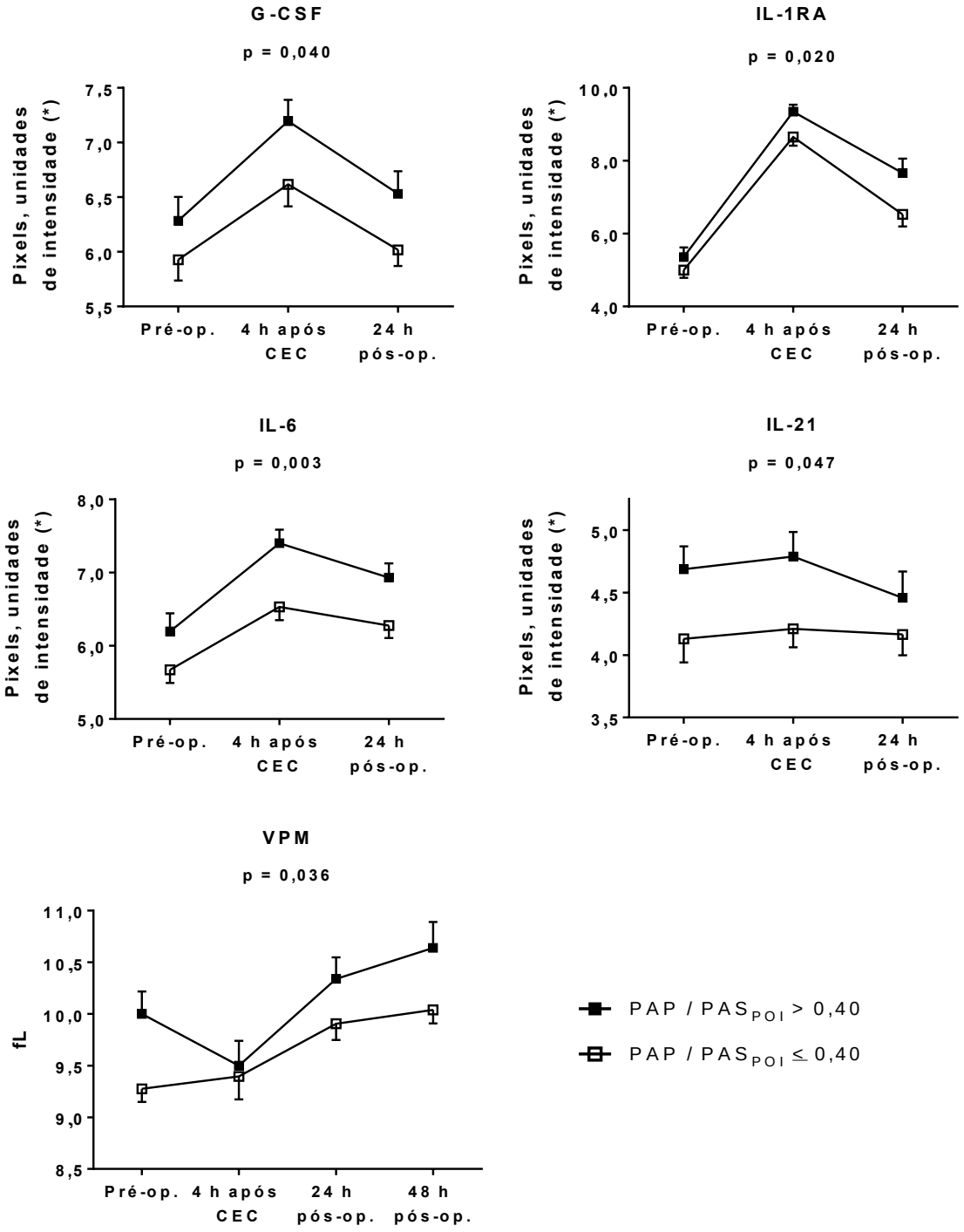


Figura 15 - Marcadores inflamatórios com diferença significante entre os grupos definidos de acordo com características hemodinâmicas.

Os valores estão expressos em média e erro padrão.

* Quimioluminescência, valores obtidos após transformação Box-Cox.

CEC, circulação extracorpórea; IL-6 e 21, respectivamente, interleucina 6 e 21; VPM, volume plaquetário médio.

4.3.4 Associação das variáveis com os Eventos Cardiorrespiratórios e Hemodinâmicos Relevantes (ECRHR)

As variáveis do estudo foram testadas buscando encontrar associação destas com os ECRHR. Com este objetivo, foram realizadas análises univariada e multivariada. A Tabela 10 mostra as variáveis para as quais se obteve um valor de $p < 0,10$ na análise univariada. Com exceção da razão neutrófilos/linfócitos, que apresentou coeficiente negativo na análise de regressão, as variáveis mostradas na Tabela 10 são positivamente relacionadas à ocorrência dos ECRHR. A razão $PMAP/PMAS_{POI} > 0,40$ assim como os marcadores inflamatórios IL-16, MIF e razão neutrófilos/linfócitos, mensurados quatro horas após a circulação extracorpórea, apresentaram valor de $p < 0,05$. No entanto, quando utilizado o procedimento *forward LR* para inclusão das variáveis na análise multivariada, apenas $PMAP/PMAS_{POI} > 0,40$ e MIF permaneceram no modelo preditivo. O *hazard ratio* para $PMAP/PMAS_{POI} > 0,40$ foi 5,07 (IC 95% 1,10 – 23,45, p=0,038) e para o nível sérico de MIF, quatro horas após a circulação extracorpórea, analisado em quartis, foi 3,29 (IC95% 1,38 – 7,88, $p < 0,001$). As variáveis analisadas, porém, sem associação significante à ocorrência de eventos foram idade, presença ou ausência da síndrome de Down, saturação de oxigênio basal, Qp/Qs, razão entre a pressão média arterial pulmonar e sistêmica antes e após a circulação extracorpórea, *Vasoaticve Inotropic Score*, níveis séricos de lactato e saturação venosa central de oxigênio no período pós-operatório e níveis séricos de marcadores inflamatórios pré e pós-operatório. Estes achados encontram-se pormenorizados no Anexo E.

Tabela 10 - Variáveis com potencial impacto na ocorrência dos ECRHR

	ECRHR		p		
	Não (n = 29)	**Sim (n = 11)**	**Análise univariada**	**Análise multivariada 1**	**Análise multivariada 2**
PMAP/$PMAS_{POI}$ >0,40, n (%)	10 (35)	8 (73)	0,038	0,046	0,047
sCD40L, basal	4348 (2871-6863)	6163 (3642-11641)	0,078	0,291	--
IL-6, basal	281 (180-637)	499 (179-1267)	0,079	0,406	--
IL-8, basal	188 (119-351)	403 (283-618)	0,089	0,767	--
IL-16, 4h após a CEC	1241 (956-2767)	2140 (1265-5703)	0,048	0,859	--
IL-1RA, 4h após a CEC	14181 (9916-19524)	20302 (14144-22796)	0,078	0,446	--
MIF, 4h após a CEC	7221 (6660-9356)	10851 (7224-14947)	0,021	0,059	0,023
RANTES, 4h após a CEC	49528 (41541-59176)	69437 (40039-95821)	0,080	0,451	--
SDF-1, 4h após a CEC	4131 (2477-6277)	6584 (3931-10135)	0,075	0,878	--
NLR, 4h após a CEC	7,58 (4,42-11,71)	3,79 (2,24-6,82)	0,043	0,105	--
PCR, mg/L, 48h após a CEC	118.89 (95,70-193,51)	163.43 (136,59-213,60)	0,077	0,419	--

São apresentados somente as variáveis para as quais se obteve um valor de $p < 0,10$ na análise univariada.

Salvo especificações, os níveis dos marcadores são dados em *pixels*, unidades de intensidade (quimioluminescência).

Os resultados estão apresentados em mediana e intervalos interquartílicos (P25 e P75).

CEC, circulação extracorpórea; ECRHR, Evento Cardiorrespiratório e Hemodinâmico Relevante; $PMAP/PMAS_{POI}$, razão entre a pressão média arterial pulmonar e a sistêmica, no início do período pós-operatório; PCR, proteína C reativa; RNL, razão entre número de neutrófilos e linfócitos em circulação; VPM, volume plaquetário médio.

4.3.5 Avaliação ecocardiográfica no final do período de cuidados intensivos e intermediários

A análise dos dados da ecocardiografia transtorácica referentes a 37 pacientes, avaliados ao final do período de permanência sob cuidados intensivos e intermediários, encontra-se na Tabela 11. De modo geral, não se observou

decréscimo importante na função sistólica dos ventrículos direito e esquerdo. A variável FAC, que estima a fração de ejeção do ventrículo direito, manteve-se acima do nível mínimo considerado normal em 34 dos 35 pacientes em que foi possível verificar este parâmetro. A variável TAPSE mostrou valores reduzidos em praticamente todos os pacientes avaliados. Entretanto, é importante ressaltar que, reconhecidamente, esta variável sofre influência da pericardiotomia[111]. A variável *strain* longitudinal de pico sistólico também se mostrou reduzida em relação ao que se considera normal. Porém, sabe-se que esta redução pode ser decorrente, em grande parte, da colocação do retalho para o fechamento da comunicação interventricular [112]. A avaliação do índice de *performance* miocárdica (IPM) apresentou valores que tenderam ao aumentado, sugerindo a presença de disfunção diastólica. Com relação à função sistólica ventricular esquerda, a fração de encurtamento foi 36% (32% – 37%), sendo considerados valores de referência 25% a 43%[108] e a fração de ejeção foi 66% (63% – 67%), sendo considerados valores normais acima de 54% [108]. As seguintes variáveis perioperatórias foram testadas quanto a uma possível associação com dados ecocardiográficos: tipo do defeito cardíaco, tempo de circulação extracorpórea, PMAP/$PMAS_{POI}$, *Vasoactive Inotropic Score*, saturação venosa central de oxigênio, nível sérico de lactato, tempo de ventilação mecânica e níveis circulantes de mediadores inflamatórios. Nenhuma destas variáveis mostrou associação significante com os dados obtidos pela ecocardiografia.

Tabela 11 – Dados ecocardiográficos relacionados ao ventrículo direito analisados comparativamente em dois momentos

	Avaliação pré-operatória	Avaliação pós-operatória*	p
FAC (%)	45,5 (39,0 – 50,0)	47,0 (42,0 – 54,0)	0,141
TAPSE (escore Z)	0,50 (-1,60 – 1,93)	- 4,07 (- 4,53 – -3,45)	<0,001
Strain longitudinal de pico sistólico, VD (%)	21,0 (19,0 – 28,4)	17,0 (15,0 – 19,5)	0,009
IPM, VD	0,46 (0,42 – 0,52)	0,55 (0,42 – 0,60)	0,092

FAC, *fractional area change*; IPM, índice de desempenho (*performance)* miocárdico; TAPSE, excursão sistólica do anel tricuspídeo (medida de função ventricular direita); VD, ventrículo direito; VE, ventrículo esquerdo. P25 e P75, respectivamente, percentil 25 e percentil 75.

São considerados valores normais para as variáveis: FAC $\geq$ 35%[108]; IPM, VD $\leq$ 0,55[108]. O valor normal médio considerado para o *strain* longitudinal de pico sistólico de VD em crianças não cardiopatas é de 29% (intervalo de confiança de 95%, 26,54 - 31.5)[103]. Valores abaixo de 20% são considerados anormais. TAPSE, valores de referência definidos para diferentes idades, sendo calculado o escore Z para cada indivíduo[101].

Para comparação entre as medidas pareadas foi utilizado o teste de Wilcoxon.

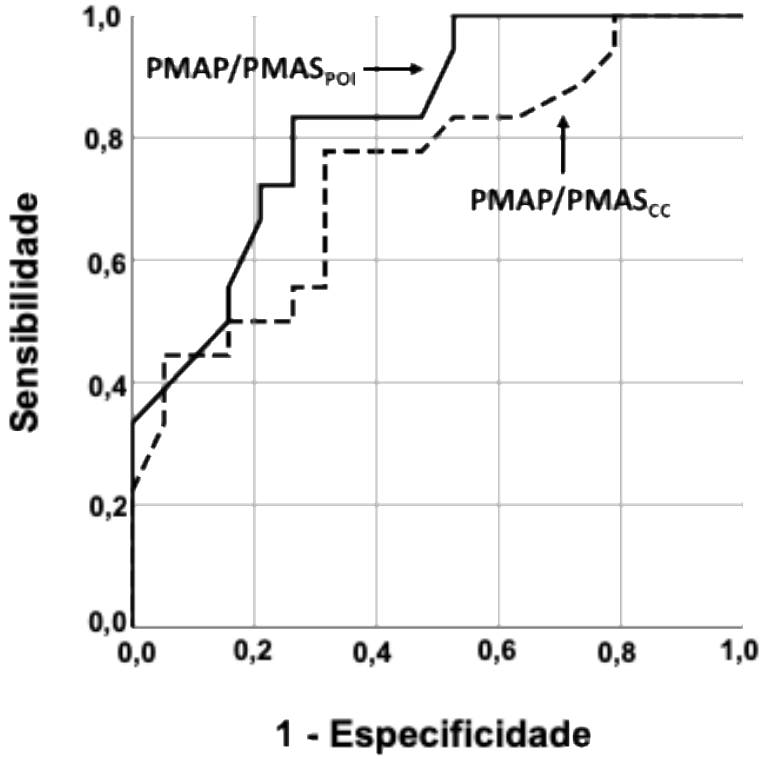
*Dados ecocardiográficos avaliados ao final da estadia dos pacientes sob cuidados intensivos e intermediários.

4.3.6 Situação hemodinâmica seis meses após o tratamento cirúrgico

A hipertensão arterial persistente após a correção cirúrgica das cardiopatias é uma condição grave que requer diagnóstico precoce e tratamento adequado para um melhor prognóstico. Assim sendo, a ecocardiografia transtorácica foi realizada seis meses após a cirurgia com o objetivo de identificar pacientes com pressão sistólica arterial pulmonar acima de 30 mmHg, nível a partir do qual se considera a presença de hipertensão discreta ou inicial [14]. Foi possível obter valores confiáveis em 37 pacientes, já considerados os dois desfechos fatais. A pressão sistólica arterial pulmonar variou de 19 a 54 mmHg. Foram encontrados valores acima de 30 mmHg em 18 pacientes e acima de 40 mmHg em quatro deles. As variáveis PMAP/$PMAS_{POI}$ e PMAP/$PMAS_{CC}$ foram

investigadas quanto à capacidade de predizer a presença de pressão arterial pulmonar elevada seis meses após a cirurgia. A variável $PMAP/PMAS_{POI}$ mostrou-se superior em relação a $PMAP/PMAS_{CC}$, conforme curva ROC demonstrada na Figura 16. O *hazard ratio* associado com o aumento de 0,10 na $PMAP/PMAS_{POI}$ foi 5,48 (IC 95% 1,72 – 17,44, p = 0,004). O *hazard ratio* associado a $PMAP/PMAS_{POI} > 0,40$ (versus $\leq 0,40$) foi 7,50 (IC 95% 1,72 – 32,80, p = 0,007). A pressão sistólica arterial pulmonar seis meses após a cirurgia em pacientes com $PMAP/PMAS_{POI} \leq 0,40$ (n= 21) *versus* > 0,40 (n = 16) foi 26 (23 – 33) mmHg e 32 (28 – 36) mmHg, respectivamente (p = 0,030).

A relação entre o comportamento hemodinâmico logo após a cirurgia (representado pela variável $PMAP/PMAS_{POI}$) e aqueles observados seis meses depois (com base na pressão sistólica arterial pulmonar pela ecocardiografia) está representada na Figura 17. As variáveis idade, tipo de anomalia cardíaca, presença da síndrome de Down, níveis séricos pré e pós-operatórios de RANTES, G-CSF, IL-1RA, IL-6 e IL-21, bem como o volume plaquetário médio foram testadas para verificar possível correlação com a persistência de pressão arterial pulmonar elevada, mas não foram encontradas associações significantes.



Evento		Sensibilidade %	Especificidade %	Área sob a curva	IC 95% Limite inferior	IC 95% Limite superior	p
PMAP/PMAS$_{CC}$	>0,39	79	68	0,746	0,587	0,905	0,011
PMAP/PMAS$_{POI}$	>0,40	72	79	0,832	0,704	0,960	0,001

Figura 16 – Razão entre a pressão média arterial pulmonar e pressão média arterial sistêmica obtida no centro cirúrgico e no início do período de cuidados intensivos (respectivamente PMAP/PMAS$_{CC}$ e PMAP/PMAS$_{POI}$) na predição da persistência de pressão sistólica arterial pulmonar > 30 mmHg, estimada pela ecocardiografia transtorácica, seis meses após a correção da anomalia cardíaca.

São apresentados valores de corte e respectivos de sensibilidade e especificidade a partir da análise das curvas ROC.

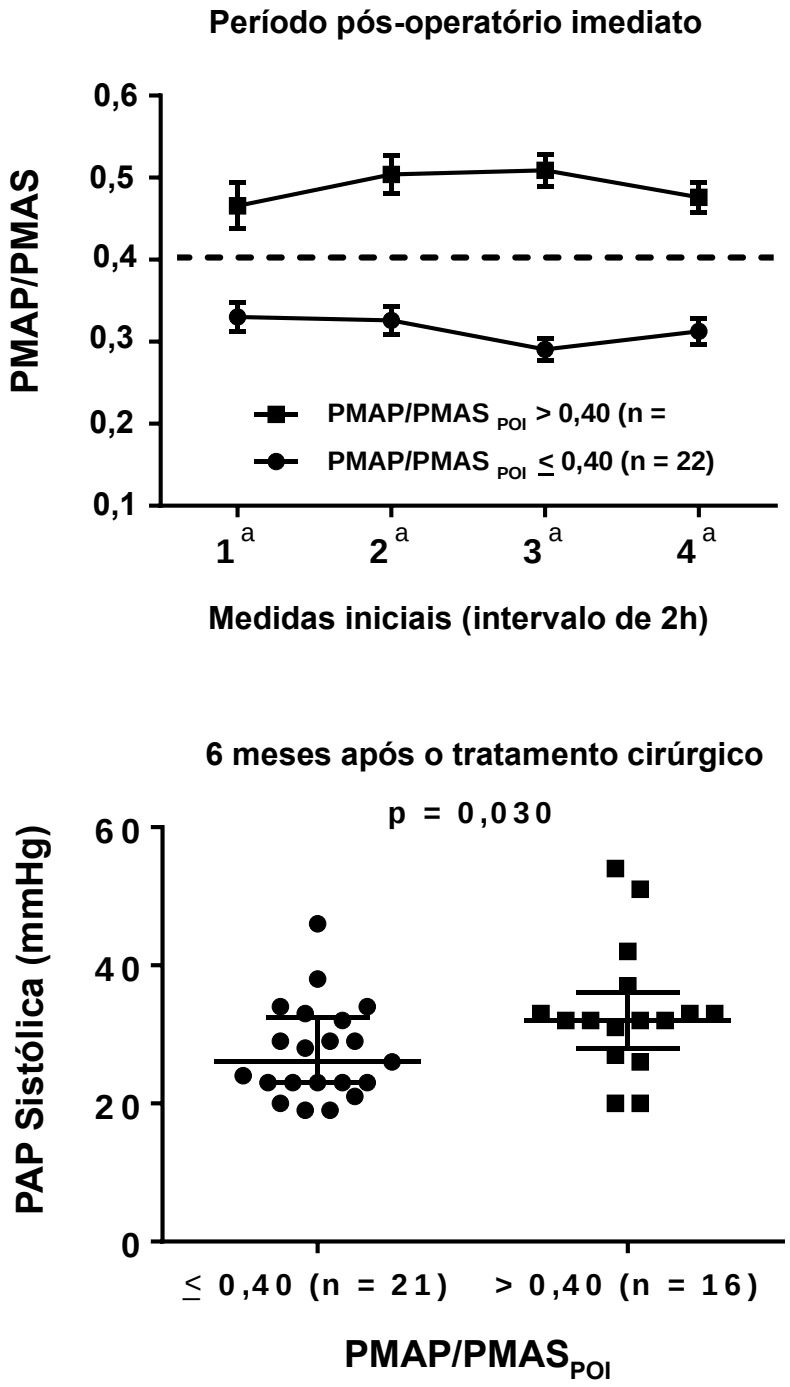


Figura 17 – Comportamento hemodinâmico no período pós-operatório (razão PMAP/PMAS entre pressões arteriais pulmonares e sistêmica medidas diretamente através de cateteres) e seis meses após o tratamento cirúrgico (pressão sistólica arterial pulmonar estimada pela ecocardiografia). No gráfico superior, os grupos são caracterizados pela presença de pacientes com a média das quatro primeiras medidas de PMAP/PMAS (variável definida como $PMAP/PMAS_{POI}$) igual ou superior a 0,40 (círculos) ou acima deste valor (quadrados). Os dados são expressos em média e erro padrão de PMAP/ PMAS, cada momento nos grupos. No gráfico inferior, a pressão sistólica arterial pulmonar aos seis meses de pós-operatório é apresentada para os grupos hemodinâmicos então definidos. A medida central e de dispersão corresponde, respectivamente, à mediana e percentil 25 e 75.

5. DISCUSSÃO

Este estudo analisou o comportamento das curvas de pressão (pulmonar e sistêmica) e a ocorrência de *Eventos Cardiorrespiratórios e Hemodinâmicos Relevantes* (ECRHR) no período pós-operatório, como desfechos precoces. E como desfecho a médio prazo, a pressão sistólica pulmonar, mensurada pela ecocardiografia transtorácica, seis meses após a cirurgia. Paralelamente, foi investigado como os desfechos poderiam estar relacionados com a inflamação sistêmica, analisada por meio dos níveis de mediadores inflamatórios circulantes mensurados no período pré e pós-operatório. Um padrão hemodinâmico no comportamento das curvas de pressão foi identificado nas primeiras seis horas do período pós-operatório, na unidade de cuidados intensivos ($PMAP/PMAS_{POI}$). Este padrão apresentou correlação com o nível sérico de cinco marcadores inflamatórios. Os ECRHR foram relacionados com o padrão hemodinâmico pulmonar do período pós-operatório imediato e com o nível sérico da proteína MIF, além de terem constituído uma das causas de ventilação mecânica prolongada. A pressão sistólica arterial pulmonar seis meses após a cirurgia correlacionou-se também com o padrão hemodinâmico pulmonar pós-operatório. A função do ventrículo direito foi analisada pela ecocardiografia ao final dos cuidados intensivos e intermediários. Os resultados mostraram disfunção de discreta a moderada, mas não se correlacionaram com nenhum dos parâmetros pós-operatórios.

A variável $PMAP/PMAS_{POI}$ foi caracterizada como um parâmetro novo e potencialmente útil. As pressões das primeiras seis horas do período pós-operatório foram observadas antes da curva inteira de pressão (30 momentos mensurados em dois dias e meio) porque neste período os pacientes ainda estavam profundamente sedados, em ventilação mecânica e relativamente

estáveis em termos fisiológicos, após a circulação extracorpórea. Especula-que que o padrão PMAP/$PMAS_{POI}$ representa uma manifestação fenotípica de hipertensão pulmonar associada com doença cardíaca congênita. Primeiro, a PMAP/$PMAS_{POI}$ correlacionou-se significantemente com os valores das pressões obtidas no centro cirúrgico logo após a circulação extracorpórea (PMAP/$PMAS_{CC}$). Estudo prévio demonstrou que elevações da pressão arterial pulmonar neste período estão associadas com polimorfismo da enzima endotelial óxido nítrico sintetase Glu298Asp [43]. Segundo, a PMAP/$PMAS_{POI}$ associou-se com níveis de marcadores inflamatórios mensurados no período pré e pós-operatório. Terceiro, a PMAP/$PMAS_{POI}$ antecipou o comportamento da curva de pressão arterial pulmonar pelos dois dias e meio seguintes. Quarto, a PMAP/$PMAS_{POI}$ apresentou relação com a pressão arterial pulmonar avaliada seis meses após a cirurgia. Associação entre a elevação da pressão arterial pulmonar no período pós-operatório e variações genéticas da enzima mitocondrial carbamil-fostato sintetase I foi evidenciada em pacientes com defeitos cardíacos congênitos [42]. Nesse estudo, a elevação da pressão pulmonar foi definida como pressão média acima de 20 mmHg por pelo menos uma hora, no período de 48 horas seguintes a correção cirúrgica [42].

No geral, a reação inflamatória foi caracterizada por mudanças no nível sérico de vários marcadores inflamatórios, como mostrado na Tabela 9. O nível da maioria deles aumentou em relação ao valor basal, enquanto a concentração de cinco proteínas diminuiu consideravelmente após a cirurgia: CD40L, RANTES, GROα, Serpina E1 e SDF-1. Provavelmente, não foi possível verificar níveis elevados de GROα, Serpina E1 e SDF-1 porque o pico de concentração

destas proteínas geralmente ocorre durante ou imediatamente após a circulação extracorpórea [113-115]. A queda no nível de CD40L foi provavelmente resultado da diminuição do número circulante de plaquetas após a cirurgia. As plaquetas são uma fonte importante de CD40L [116], além da expressão por células T CD4+ [117]. Nos pacientes do presente estudo, os níveis séricos de CD40L correlacionaram-se positivamente com a contagem de plaquetas no período pré e pós-operatório. A quimiocina RANTES esteve aumentada em pacientes *versus* controles no período pré-operatório, confirmando observações prévias do nosso grupo [34]. No período pós-operatório, RANTES diminuiu, provavelmente como resultado do uso de agentes inotrópicos e vasopressores. A quimiocina RANTES é produzida por células endoteliais em condições inflamatórias [118], assim como expressa por linfócitos T ativados e plaquetas [119]. Em pacientes pediátricos após a cirurgia cardíaca, os níveis circulantes de RANTES apresentam-se diminuídos, sendo que as concentrações mais baixas são associadas com tempo cirúrgico aumentado, necessidade de suporte inotrópico e reoperação [120]. No presente estudo, os níveis pós-operatório de RANTES correlacionaram-se negativamente com *Vasoative Inotropic Score* (VIS). Além disso, a circulação extracorpórea causa acentuada redução nos linfócitos T [121] e nas quimiocinas recrutadoras de macrófagos, incluindo MIP-1β e RANTES. O recrutamento e a ativação de neutrófilos são associados com disfunção de múltiplos órgãos [122]. Neste estudo, a circulação extracorpórea ocasionou queda na contagem de linfócitos, e aumento importante da razão neutrófilo/linfócito.

Cinco marcadores inflamatórios com níveis ou valores aumentados no período pós-operatório, IL-6, IL1-RA, G-CSF, IL-21 e volume plaquetário médio correlacionaram-se com o padrão hemodinâmico pulmonar nas primeiras seis

horas do período pós-operatório na unidade de cuidados intensivos, enquanto altas concentrações da proteína MIF, quatro horas após a circulação extracorpórea associaram-se com a ocorrência dos ECRHRs. Em geral, a citocina IL-6 é considerada pró-inflamatória e as citocinas e IL-1RA, G-CSF e IL-21 têm efeitos que as caracterizam como anti-inflamatórias [123, 124]. No contexto fisiopatológico deste estudo, o aumento do volume plaquetário médio pode ser interpretado como um evento pró-inflamatório [125]. Em pacientes pediátricos submetidos a cirurgia cardíaca, o aumento da concentração de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e IL-8 no plasma e nos tecidos é contrabalanceado por respostas anti-inflamatórias também no plasma (IL-10 seguida pela IL-1RA) e nos tecidos (IL-10) [126, 127]. O aumento exuberante do nível sérico de IL-1RA, observado no período pós-operatório, na ausência de aumento significante de IL-1α ou IL-1β (não mostrado), não foi surpresa. Sabe-se que grandes quantidades de IL-1RA são requeridas para inibir funcionalmente o efeito biológico de um pequeno aumento no nível sérico de IL-1 [128]. As proteínas IL-1RA, IL-10 e MCP-1 são conhecidas por desempenhar importante papel na recuperação da função dos monócitos após a cirurgia cardíaca pediátrica [129]. Estudos experimentais mostram o papel fisiopatológico da IL1-RA na hipertensão pulmonar [130-132], mas não há estudos em hipertensão pulmonar pediátrica. Particularmente, não há estudos pediátricos no contexto da hipertensão pulmonar no período pós-operatório de correção dos defeitos cardíacos congênitos. Os dados da presente pesquisa parecem indicar que ambas as respostas, pró-inflamatória (IL-6) e anti-inflamatória (IL-1RA, G-CSF e IL-21) foram mais proeminentes em pacientes que apresentaram pressão arterial

pulmonar elevada no período pós-operatório. Especula-se que a resposta anti-inflamatória, embora evidente, tenha sido insuficiente para antagonizar o efeito pró-inflamatório que estimulou o tônus vascular pulmonar nestes pacientes.

Os ECRHR ocorreram em 27,5% dos pacientes. Esta prevalência relativamente alta deve-se, possivelmente, a dois motivos. Primeiro, pela inclusão de eventos que provavelmente não seriam classificados como *crise de hipertensão pulmonar,* conforme as definições atuais, mas que contribuíram para a necessidade de ventilação mecânica prolongada. Segundo, diferente de outros estudos que avaliaram *crise de hipertensão pulmonar* em toda população pediátrica submetida a cirurgia cardíaca [49, 91], este foi realizado com casuística muito específica e sujeita a apresentar intercorrências relacionadas à instabilidade vascular pulmonar (pacientes até três anos, com comunicações cardíacas congênitas não restritivas e hipertensão pulmonar pré-operatória). Desta forma, foi esperada prevalência mais elevada de transtornos hemodinâmicos. Das variáveis testadas para correlação com os ECRHR, a $PMAP/PMAS_{POI}$ e o nível sérico da proteína MIF quatro horas após a circulação extracorpórea, atingiram significância estatística nas análises univariada e multivariada. A pressão arterial pulmonar elevada no início do período pós-operatório (isto é, $PMAP/PMAS_{POI} > 0,40$) pode ter levado alguns pacientes mais susceptíveis a apresentarem ECRHR. Estes eventos podem ter sido desencadeados por fatores como hipóxia alveolar e mudanças no pH, conhecidos por comprometer o tônus vascular pulmonar no período pós-operatório. Somados a estes fatores, a sobrecarga e a disfunção do ventrículo direito, contribuem para o baixo débito cardíaco que, se não revertido, leva à falência cardíaca global [80]. A proteína MIF é um ligante não canônico para

receptores de quimiocinas, conhecido por desempenhar papel central na imunidade inata [133] e em numerosos processos biológicos no remodelamento vascular, incluindo o pulmonar [134]. O MIF liga-se aos receptores CXCR2, CXCR4 e CXCR2/CD74 levando à ativação e sinalização de vias que resultam em proliferação de células musculares lisas vasculares, inibição da apoptose de células endoteliais, recrutamento periférico de células sanguíneas mononucleares e transição de células endoteliais para um fenótipo pró-inflamatório [87, 135, 136]. Previamente, o nosso grupo encontrou associações do nível sérico de MIF com hipertrofia arteriolar pulmonar, resistência vascular pulmonar e resposta ao óxido nítrico inalado em pacientes pediátricos com comunicações cardíacas congênitas [33]. De potencial interesse, em termos de mudanças agudas no tônus vascular pulmonar, foi demonstrado que a adição de MIF em anéis isolados de artérias pulmonares realça a vasoconstrição em resposta à hipóxia e potencializa a constrição induzida por agonistas [41].

Neste estudo, procurou-se por possíveis preditores de pressão arterial pulmonar elevada após a alta hospitalar. Foi interessante observar que nem os ECRHR, nem a pressão pulmonar seis meses após a cirurgia correlacionou-se com idade do paciente ou presença da síndrome de Down, classicamente considerados fatores de risco para hipertensão pulmonar pós-operatória. No entanto, a $PMAP/PMAS_{POI}$ foi preditiva tanto dos ECRHR como da pressão pulmonar elevada após a alta hospitalar. Em estudo prévio do nosso grupo envolvendo pacientes com hipertensão pulmonar mais acentuada, a magnitude da resposta ao teste de vasodilatação pulmonar com óxido nítrico (cateterismo cardíaco pré-operatório) e o grau de hipertrofia arteriolar (biopsia pulmonar intra-operatória) foram caracterizados como preditores da hemodinâmica pulmonar

seis meses após a cirurgia [12]. Em outro estudo do nosso grupo, foi demonstrado que pacientes com síndrome de Down que apresentaram, no período pré-operatório, nível sérico de MIF no quartil inferior, ficaram livres de hipertensão arterial pulmonar seis meses após a cirurgia [34]. Parece que nem todos os pacientes considerados como sendo de risco para hipertensão pulmonar pós-operatória, na verdade persistem com pressão elevada em curto ou longo prazo após a cirurgia cardíaca. Novos marcadores (biológicos e não biológicos) precisam ser caracterizados e adicionados aos fatores de riscos clássicos para identificar mais precisamente pacientes que irão evoluir para completa normalização clínica e hemodinâmica e os que não irão. A detecção precoce de elevação da pressão arterial pulmonar após a correção cirúrgica das comunicações cardíacas é crucial, levando em consideração que a hipertensão pulmonar pós-operatória é associada a um prognóstico extremamente desfavorável [137, 138].

6. CONCLUSÕES

Baseado nos achados deste estudo foi possível chegar às seguintes conclusões:

1. O padrão de comportamento hemodinâmico pulmonar pode ser identificado no início do período pós-operatório de correção das comunicações cardíacas congênitas. Este padrão correlacionou-se com parâmetros hemodinâmicos do centro cirúrgico ao final da circulação extracorpórea.

2. O padrão hemodinâmico pulmonar identificado no início do período pós-operatório correlacionou-se com níveis circulantes de marcadores inflamatórios mensurados tanto no período pré como no pós-operatório imediato: IL-6, IL1-RA, G-CSF, IL-21 e volume plaquetário médio.

3. O comportamento hemodinâmico inicial no período pós-operatório e o nível da proteína MIF na quarta hora correlacionaram-se com *Eventos Cardiorrespiratórios e Hemodinâmicos Relevantes* ocorridos na unidade de cuidados intensivos.

4. A evolução da pressão arterial pulmonar seis meses após o tratamento cirúrgico pode ser prevista a partir do comportamento hemodinâmico pulmonar no período pós-operatório imediato.

7. POSSÍVEIS IMPLICAÇÕES

A hipertensão arterial pulmonar associada às comunicações congênitas entre câmaras cardíacas, ainda hoje, é um problema relevante na prática assistencial em pacientes pediátricos. No período pré-operatório, a presença da pressão pulmonar elevada tem implicação na indicação do tratamento corretivo. No período pós-operatório imediato, pode levar a instabilidades hemodinâmicas e eventos clínicos graves que aumentam a morbimortalidade. E, após a alta hospitalar, a persistência da pressão pulmonar elevada implica em piora do prognóstico.

Conhecer fatores preditores de instabilidade pós-operatórios torna-se crucial para o manejo individualizado na unidade de cuidados intensivos visando à redução de comorbidades, de permanência e de custos. Identificar preditores de hipertensão pulmonar persistente após a cirurgia corretiva de lesões cardíacas é crítico para a adequada assistência, que não termina na alta hospitalar. Muitos pacientes necessitarão de intervenções farmacológicas complexas no sentido de se tentar abortar a evolução de uma condição reconhecidamente grave.

A presença de alterações em mediadores inflamatórios, algumas mesmo antes da cirurgia, com acentuação posterior, associada ao aumento de pressão pulmonar que se estende do período de cuidados intensivos até meses (ou anos) após a alta, sugere algo além de simples comportamento reativo perioperatório da circulação pulmonar, parecendo caracterizar um fenótipo. Se assim considerarmos, os achados do estudo justificam investigações continuadas acerca de mecanismos fisiopatológicos, assim como a busca por intervenções terapêuticas cada vez mais específicas.

8. ANEXOS

Anexo A – Termo de consentimento livre e esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS SOBRE A PESQUISA

TÍTULO DA PESQUISA: Estudo do impacto da resposta inflamatória sobre complicações cardiocirculatórias em crianças com defeitos septais cardíacos e hipertensão pulmonar no contexto do tratamento cirúrgico: análise de morbimortalidade segundo o perfil de risco – 1ª parte Período Peri-operatório

Pesquisador Principal: Prof. Dr. Antonio Augusto B. Lopes

Pesquisador Executante: Enfa. Maria Francilene Silva Souza

Departamento/Instituto: Unidade Clínica de Cardiologia Pediátrica e Cardiopatias Congênitas do Adulto, Instituto do Coração (InCor) – HC-FMUSP

Como você já sabe, o seu filho é portador de uma má formação no coração e será submetido a uma cirurgia para correção.

Para toda cirurgia, como a do seu filho, é necessário que o coração fique parado por algum tempo. Para isto, o paciente é ligado a uma máquina chamada de circulação extracorpórea ou CEC, que faz o papel do coração e do pulmão enquanto o cirurgião opera o coração. Esta máquina funciona como se fosse um coração artificial. É sabido que um dos efeitos provocados por ela é uma reação inflamatória temporária no organismo. Esta é uma reação que ocorre em todos os pacientes, embora em alguns possa ocorrer de forma mais intensa que em outros. Rotineiramente, durante a cirurgia, são tomadas providências para minimizar esta reação. Esta é uma reação inflamatória, mas não é infecciosa, ou seja, não é causada por bactéria, mas pela própria máquina enquanto bombeia o sangue.

Após a cirurgia o seu filho será encaminhado à UTI de Pós-Operatório, conhecida na instituição como REC. Este é um período bastante delicado em que mesmo com todos os cuidados prestados, há risco de acontecer intercorrências como o aumento da pressão do sangue dentro dos pulmões, perda temporária da força do coração e necessidade do uso de medicamentos para fazê-lo bater com mais força, entre outras.

Nesta pesquisa, nos estamos interessados em saber se há alguma relação entre a reação inflamatória provocada pela máquina de circulação extracorpórea e intercorrências, como as citadas acima, que ocorrem no pós-operatório. Gostaríamos também de ver se tudo isso interfere na função do coração como “bomba”, no momento da saída da UTI. Isto será feito pelo ecocardiograma, que você já conhece.

Se você autorizar a participação do seu filho neste estudo, será necessário coletar uma pequena amostra de sangue em três momentos:

1) A primeira amostra será coletada um dia antes da cirurgia, juntamente com a coleta dos exames pré-operatórios, que é um procedimento de rotina. Não será necessário “picá-lo” apenas para este fim.

2) A segunda amostra será coletada nas primeiras horas após a cirurgia. Essa coleta será feita pelo cateter ligado a veia do paciente, que é passado durante a cirurgia, de forma que não será necessário “picá-lo”.

3) A terceira amostra será coletada 24 horas após a cirurgia, da mesma maneira que a segunda.

Outro procedimento que será feito, é um ecocardiograma mais detalhado, antes da cirurgia e antes da alta do seu filho para casa. O ecocardiograma é um exame não invasivo que você já conhece, e tem duração de aproximadamente 30 minutos.

Como você pode perceber seu filho não sofrerá nenhum dano ou prejuízo. Não será administrado nenhum medicamento novo.

Não existem despesas com relação a exames ou consultas, normais ou extraordinárias. Entretanto, esclarecemos que não haverá compensação financeira por sua participação.

A participação do seu filho é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma como ele será atendido.

Os dados coletados serão analisados de forma coletiva, e o nome dele não será citado ou revelado em nenhuma publicação.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de dúvidas. Os investigadores são o Dr. Antonio Augusto B. Lopes e a Enfa. Maria Francilene Silva Souza, que podem ser encontrados no endereço Instituto do Coração (InCor), Av. Dr. Eneas de Carvalho Aguiar, 44, Telefone (11) 2661-5000, e-mail antonio.ablopes@hc.fm.usp.br e maria.francilene@incor.usp.br. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 2661-7585 – E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito do estudo ”Estudo do Impacto da resposta inflamatória sobre complicações cardiocirculatórias em crianças com defeitos septais cardíacos e hipertensão pulmonar no contexto do tratamento cirúrgico – 1ª parte Período Peri-operatório”.

Eu discuti as informações acima com o Pesquisador Responsável (Dr. Antonio Augusto B. Lopes) ou pessoa (s) por ele delegada (s) (Enfa. Maria Francilene Silva Souza) sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim os objetivos, os procedimentos, os potenciais desconfortos e riscos e as garantias. Concordo voluntariamente em participar deste estudo, assino este termo de consentimento e recebo uma via rubricada pelo pesquisador.

Assinatura do participante/representante legal Data ___/___/___

Assinatura do responsável pelo estudo Data ___/___/___

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO (OU ETIQUETA INSTITUCIONAL DE IDENTIFICAÇÃO) DO PARTICIPANTE DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME: .:..... .....
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : ..... SEXO : .M □ F □
DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
ENDEREÇO ..... Nº ..... APTO: .....
BAIRRO: ..... CIDADE .....
CEP:..... TELEFONE: DDD (.....) .....

2.RESPONSÁVEL LEGAL .....
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) ....
DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M □ F □
DATA NASCIMENTO.: ...../...../.....
ENDEREÇO: ..... Nº ..... APTO: .....
BAIRRO: ..... CIDADE: .....
CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....).....

Anexo B – Aprovação CAPPesq

USP - HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE

Plataforma Brasil

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Estudo do impacto da resposta inflamatória sobre complicações cardiocirculatórias em crianças com defeitos septais cardíacos e hipertensão pulmonar no contexto do tratamento cirúrgico: análise de morbimortalidade segundo o perfil de risco.

Pesquisador: Antonio Augusto Barbosa Lopes
Área Temática:
Versão: 3
CAAE: 54521916.8.0000.0068
Instituição Proponente: HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P
Patrocinador Principal: HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P
FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.068.696

Apresentação do Projeto:
Claro e objetivo quanto a proposta do estudo

Objetivo da Pesquisa:
Analisar possíveis associações entre mediadores de inflamação presentes em circulação (juntamente com outros fatores peri-operatórios) e a morbidade e mortalidade intra-hospitalares (com foco na disfunção coração-pulmão) em pacientes pediátricos com anomalias de septação cardíaca (sem estenose pulmonar) submetidos a tratamento cirúrgico sob CEC; Analisar, em pacientes com as mesmas caracteristicas, o perfil de marcadores inflamatórios e resposta imune na vigência de ocorrências infecciosas respiratórias de natureza viral (incidentes no período pré-operatório) e na condição de resolução do processo, comparativamente à situação de ausência de infecção e a controles pediátricos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:
Riscos: Serão coletadas 03 amostras de sangue entre pré e pós operatório, o que não implica em procedimentos fora da rotina de um paciente cirúrgico.

Endereço: Rua Ovidio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

USP - HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE

Plataforma Brasil

Continuação do Parecer: 2.068.696

Benefícios: permitirá melhor entendimento fisiopatológicos dos transtornos cardiopulmonares que ocorrem no período pós-operatório de cirurgia cardíaca pediátrica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo será incluído do subprojeto de Doutorado intitulado "Estudo do Impacto da Resposta Inflamatória sobre complicações Cardiocirculatórias em Crianças com Defeitos Septais Cardíacos e Hipertensão Pulmonar no Contexto do Tratamento Cirúrgico: Análise de Morbimortalidade segundo o perfil de risco – 1ª Parte Período Perioperatório",cuja executante será a enfermeira MARIA FRANCILENE SILVA SOUZA.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE esclarece aos responsáveis os procedimentos que serão realizados com linguagem que permite a compreensão do estudo.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_853658E1.pdf	09/05/2017 16:22:38		Aceito
Outros	LopesAADoutoradoFran_cartasub.pdf	09/05/2017 16:20:56	Antonio Augusto Barbosa Lopes	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Francilene_Projeto_revisado_submissao.pdf	03/04/2017 08:31:46	Antonio Augusto Barbosa Lopes	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	LopesAADoutoradoFrancileneTCLE_revisado.doc	31/03/2017 12:46:23	Antonio Augusto Barbosa Lopes	Aceito
Outros	PARECER_PCAR_anonimizado_SUB_FRANCILENE_SDC_4324_15_151.pdf	13/01/2017 15:58:10	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	Analise_Orcamentaria_SDC_4324_15_151_sub_Francilene.pdf	13/01/2017 15:55:20	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	FAPESP_Auxilio_a_Pesquisa.pdf	13/01/2017 15:52:03	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

USP - HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE

Plataforma Brasil

Continuação do Parecer: 2.068.696

Outros	Carta.pdf	13/01/2017 15:50:59	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	ON_LINE_ASSINADO.pdf	24/03/2016 17:11:43	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Folha de Rosto	FR_ASSINADA.pdf	24/03/2016 17:10:45	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	PARECERSCOCanonimizadoSDC4324_15_151.pdf	17/03/2016 15:29:14	Antonio Augusto Barbosa Lopes	Aceito
Outros	LopesAAModeloParecerParteI.pdf	17/03/2016 15:27:33	Antonio Augusto Barbosa Lopes	Aceito
Outros	LopesAAInflamacaoHPAnexoA.pdf	17/03/2016 15:26:50	Antonio Augusto Barbosa Lopes	Aceito
Outros	CartadeAnuenciaProSangue.pdf	17/03/2016 15:26:31	Antonio Augusto Barbosa Lopes	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	LopesAATCLEInflamacaoHP.pdf	17/03/2016 15:23:44	Antonio Augusto Barbosa Lopes	Aceito
Orçamento	AnaliseOrcamentariaSDC4324_15_151.pdf	17/03/2016 15:22:54	Antonio Augusto Barbosa Lopes	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	LopesAAProjetoInflamacaoHP.pdf	17/03/2016 15:22:18	Antonio Augusto Barbosa Lopes	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

SAO PAULO, 17 de Maio de 2017

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador)

COMISSÃO CIENTÍFICA
RECEBIDO
30/05/17
Henrique

Endereço: Rua Ovidio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Anexo C - Dados individuais do período intra-operatório

Nº.	Identificação	Tempo CEC min	Tempo anóxia min	UFM mL/kg / retirado	Conc. Hemácias mL/kg	Hipotermia temp. min ºC	Aquecimento temp. max ºC	Protamina mg/kg	Adrenalina µg/kg/mim	Dotutamina µg/kg/mim	Milrinone µg/kg/mim
1	IRGS	157	134	68	24	29,7	36,7	11	0,40	20,00	0,75
2	NAF	218	170	66	43	29,6	36,7	27	0,15		0,37
3	VHA	139	120	57	29	30,6	36,5	11		3,00	0,75
4	LBS	110	84	40	28	28,3	36,5	10	0,20	2,00	
5	EBES	144	123	53	23	27,2	36,4	09		4,00	
6	YVHC	153	124	60	34	29,7	36,7	16	0,20	10,00	0,50
7	AAF	103	83	40	0	29,7	38,7	21	0,10	5,00	
8	PVS	88	70	36	0	30,8	37,1	09			0,50
9	LAM	100	66	85	28	27,6	36,7	20	0,10		0,25
10	SBF	144	108	36	35	28	36,5	15	0,20		0,50
11	LGOS	90	76	41	36	27	37,7	11	0,15		0,50
12	LCHOSS	157	132	77	46	29	37	23	0,20	5,00	0,50
13	MHSAV	148	119	69	52	28,5	36,7	12	0,40		0,70
14	SVC	150	132	52	40	29,3	36,7	13	0,10		0,50
15	IRF	66	45	38	31	29,7	36,5	10		5,00	0,30
16	PHR	86	66	63	39	29,7	36,3	10	0,10		0,37
17	KAO	139	111	51	0	31	36,8	10	0,10	5,00	
18	MMS	120	85	49	35	30,4	37,9	09	0,10		0,40
19	MEGSC	156	134	51	42	32	37,1	17	0,18		
20	KSO	134	115	29	23	29,9	36,5	10	0,20		0,50
21	MJS	125	64	70	28	32	36,5	11		5,00	0,75
22	VOS	110	85	112	51	31,3	36,4	16	0,20		0,50
23	GSB	167	150	67	25	33,9	36,6	13	0,10		0,50
24	NMMC	133	120	39	10	28	34,4	13	0,10	6,00	
25	LMS	80	56	80	50	31,1	36,4	16	0,01	2,00	0,15
26	CILS	155	129	97	48	32,2	36,4	11	0,15	10,00	0,37
27	JVMA	164	128	78	39	31,8	37,1	12	0,15	5,00	
28	AAG	105	85	65	32	32	36,5	12	0,10		0,75
29	GSS	117	79	42	11	29,4	36,3	10		7,00	0,75
30	CERA	90	59	78	49	28	36,7	10	0,01	2,00	0,75
31	SRL	141	122	32	16	32	38,7	11	0,05	4,00	0,75
32	SVS	108	77	79	59	31,6	36,6	16		6,00	0,37
33	TMOM	80	64	55	52	34	36,7	11	0,05		0,75
34	MCS	131	107	44	33	30	36,2	11	0,10		0,50
35	LEQS	81	55	69	39	30,4	36,6	11		3,00	0,30
36	KPBS	92	52	150	63	29,9	36,6	13	0,05		0,50
37	RRG	175	125	71	44	28	36,2	11	0,15	10,00	
38	TDN	74	53	37	27	28,4	37,9	14		2,00	0,50
39	ASRA	74	54	39	24	31,9	36,5	08	0,03		0,50
40	ASNA	172	142	63	31	31,5	36,7	11	0,20		0,50

Nº, número do paciente pela ordem de entrada no estudo; Tempo de CEC min, tempo de circulação extracorpórea em minutos; Tempo de anóxia min, tempo de anóxia em minutos durante a circulação extracorpórea, UFM mL/kg/retirado, quantidade de líquido retirado durante a ultrafiltração em mililitros por quilogramas; Conc Hemácias mL/kg, concentrado de hemácias recebido durante a cirurgia em mililitros por quilogramas; Hipotermia temp. min ºC, temperatura mínima atingida em graus Celsius durante a cirurgia; Aquecimento max ºC, temperatura máxima atingida em graus Celsius ao término da cirurgia; Protamina mg/kg, quantidade de protamina administrada em miligramas por quilograma; Adrenalina, Dobutamina e Milrinome µg/kg/mim, doses ponderais em microgramas por quilogramas por minuto ao final do procedimento cirúrgico.

Anexo D - Marcadores inflamatórios nos grupos hemodinamicamente definidos, nos três momentos estudados

	PMAP/PMAS$_{POI}$ ≤ 0,40 (n = 22)			PMAP/PMAS$_{POI}$ > 0,40 (n = 18)			p	
	Pré-operatório	Pós-operatório		Pré-operatório	Pós-operatório		Entre momentos	Entre grupos
		4h	24h		4h	24h		
C5/C5a	1359 971-3465	1340 858-3039	1878 817-3865	3132 1362-5124	2204 1271-3539	2720 1230-5783	0,128	0,463
CD40L	4310 2740-8359	1898 1178-2993	2307 1585-4034	5916 3162-6983	2142 1263-5321	2760 1315-4373	<0,001	0,873
G-CSF	391 154-800	814 360-1397	401 247-619	689 294-923	1234 766-1949	679 343-1597	<0,001	0,040
GM-CSF	345 189-443	270 165-521	364 187-674	342 126-529	355 269-787	288 138-781	0,633	0,848
GROα	1588 1269-2980	1191 684-1353	741 443-1476	1796 1189-2947	1594 683-2828	1210 646-1670	<0,001	0,292
I-309	424 252-1210	601 217-891	439 268-873	881 348-1232	891 317-1684	616 210-1194	0,087	0,453
ICAM-1	34742 23298-46173	33991 24174-45107	33583 19851-43258	41078 35456-49587	43362 28512-52499	39762 33665-48813	0,134	0,198
IFN-γ	319 179-423	296 190-405	256 171-367	345 194-592	396 252-636	287 165-559	0,144	0,359
IL-1α	437 173-711	364 205-819	402 168-760	371 220-798	490 304-914	397 199-929	0,460	0,903
IL-1β	192 80-493	187 103-436	230 102-364	135 118-528	304 167-676	238 91-693	0,943	0,594
IL-1RA	1210 518-2249	13140 9524-18184	4662 1770-6574	1925 1070-2633	18853 14058-21786	7036 4654-12461	<0,001	0,020
IL-2	323 121-562	205 131-421	212 98-490	325 121-432	244 156-731	174 94-608	0,462	0,707
IL-4	345 210-456	261 177-451	257 218-397	343 201-591	431 222-501	322 183-539	0,120	0,604
IL-5	93 75-245	76 41-188	86 50-209	111 68-208	134 125-177	130 79-250	0,726	0,245
IL-6	281 141-637	826 368-1215	601 330-1071	477 225-1210	2056 1010-2839	961 450-2181	<0,001	0,003
IL-8	279 146-403	292 169-621	227 144-448	317 155-655	511 267-864	269 189-610	0,014	0,167
IL-10	249 124-371	251 192-404	267 189-394	313 215-587	419 245-763	292 107-847	0,244	0,187
IL-12p70	273 151-467	239 116-392	301 137-414	215 115-650	207 142-739	205 134-835	0,472	0,831
IL-13	483 302-1097	645 277-1053	549 227-1262	864 323-1413	884 405-1775	823 415-1665	0,494	0,260
IL-16	564 261-1083	1241 1001-2715	908 349-1218	578 448-1518	2768 1529-3923	1133 635-2878	<0,001	0,155
IL-17	281 211-485	259 172-383	287 147-369	346 188-627	329 200-771	278 199-695	0,546	0,371
IL-17E	406 192-790	324 242-433	322 180-532	415 224-749	437 319-938	425 164-586	0.243	0.407
IL-27	350 211-422	231 161-401	305 196-391	199 151-413	313 157-721	281 150-554	0,975	0,946
IL-32α	405 257-888	368 275-765	474 142-855	707 253-1293	807 272-1484	490 234-950	0,218	0,247
IP-10	904 410-1808	1466 637-2723	659 166-1122	824 623-2033	3186 1015-4080	702 186-2109	<0,001	0,305
I-TAC	594 310-1024	513 399-832	508 376-829	864 290-1085	606 367-1121	629 344-1062	0,637	0,994
MCP-1	381 230-786	447 323-830	364 254-631	560 246-962	881 610-1269	508 241-1100	0,002	0,178
MIF	5514 4113-7055	7117 6604-9722	5587 3662-8508	6078 5192-7330	9010 7209-11057	6753 5465-8794	<0,001	0,299
MIP-1α/β	495 225-845	434 250-537	284 191-703	703 263-1322	662 488-1236	626 228-1038	0,192	0,328
Serpin E1	44650 35485-57863	37559 30688-46958	34719 27139-40310	52910 40782-62429	44831 32830-53588	40841 35076-51601	<0,001	0,086
RANTES	64525 50627-81348	50828 39911-78459	46564 36403-66291	68037 59861-74569	51934 42454-68576	48699 33868-60721	<0,001	0,956

	PMAP/PMAS$_{POI}$ ≤ 0,40 (n = 22)			PMAP/PMAS$_{POI}$ > 0,40 (n = 18)			p	
	Pré-operatório	Pós-operatório		Pré-operatório	Pós-operatório		Entre momentos	Entre grupos
		4h	24h		4h	24h		
SDF-1	4123 3615-6061	3807 2486-7486	2668 2098-4702	4695 3031-5795	4797 4031-7014	3566 2980-4947	0,002	0,734
TNFα	348 138-557	279 186-560	372 179-483	335 174-880	519 210-835	350 157-744	0,382	0,451
sTREM-1	398 273-604	307 209-655	307 186-651	304 112-593	315 223-701	316 203-955	0,300	0.953
IL-18	672 444-1522	716 463-1073	812 544-1304	1137 675-1742	1476 699-2439	1587 588-2521	0,454	0,062
IL-21	338 152-589	349 257-558	321 211-585	658 344-949	562 353-912	479 278-834	0,181	0,047
VPM, fl	9,40 8,65-9,80	9,20 8,65-9,85	9,80 9,20-10,30	1,.00 9,30-10,85	9,40 9,05-10,00	10,30 9,75-10,85	<0,001	0,018
RNL	0,54 0,38-0,81	6,83 4,23-9,41	5,14 3,54-9,17	0,77 0,43-1,40	6,50 3,85-16,72	7,09 4,82-9,28	<0,001	0,148
Monocltos, K/μL	0,64 0,44-0,95	0,97 0,69-1,38	1,66 0,83-2,09	0,78 0,62-1,13	1,17 0,93-1,50	1,48 1,22-1,93	<0,001	0,266
PCR, mg/L	2,62 1,27-4,99	2,05 1,56-3,20	61,99 51,09-78,33	1,54 0,90-3,39	3,05 2,01-4,35	69,12 55,62-82,65	<0,001	0,942

Salvo especificações os níveis dos marcadores são dados em *pixels*, unidades de intensidade (quimioluminescência).

Os resultados estão apresentados em mediana e intervalos interquartílicos (P25 e P75).

Os dados foram analisados, após transformação Box-Cox, usando o modelo linear geral para medidas repetidas. PMAP/PMAS$_{POI,}$ razão entre a pressão média arterial pulmonar e a sistêmica, no início do período pós-operatório; PCR, proteína C reativa; RNL, razão entre número de neutrófilos e linfócitos em circulação; VPM, volume plaquetário médio.

Anexo E - Variáveis com potencial impacto na ocorrência dos ECRHR

	ECRHR		p		
	Não (n = 29)	Sim (n = 11)	Análise univariada	Análise multivariada 1	Análise multivariada 2
Idade, meses	11 (8-18)	11 (7-15)	0,624	--	--
Saturação periférica de oxigênio basal, %	97 (94-99)	95 (93-98)	0,322	--	--
Qp/Qs basal	2,50 (1,80-3,2)	1,90 (1,70-3,30)	0,449	--	--
PMAP/PMAS pré-CEC	0,74 (0,53-0,86)	0,67 (0,63-0,84)	0,974	--	--
PMAP/PMAS pós-CEC	0,38 (0,33-0,45)	0,47 (0,42-0,49)	0,387	--	--
Tempo de CEC, min	125 (91-156)	134 (90-144)	0,915	--	--
VIS					
POI	16 (10-30)	14 (8-25)	0,690	--	--
1PO	21 (10-41)	33 (15-48)	0,435	--	--
2PO	22 (11-33)	26 (14-41)	0,705	--	--
SvO2, %					
POI	70 (69-86)	81(76-83)	0,514	--	--
1PO	82 (71-87)	76 (71-81)	0,297	--	--
2PO	76 (70-84)	70 (61-78)	0,299	--	--
Lactato, mg/dl					
POI	21(16 -31)	18 (15-31)	0,553	--	--
1PO	13 (9-16)	11 (9-14)	0,333	--	--
2PO	12 (11-16)	13 (11-20)	0,798	--	--
Síndrome de Down, n (%)	18 (62)	7 (64)	0,927	--	--
$PMAP/PMAS_{POI}$ >0,40, n (%)	10 (35)	8 (73)	0,038	0,046	0,047
CD40L basal, upi	4348 (2871-6863)	6163 (3642-11641)	0,078	0,291	--
IL-6 basal, upi	281 (180-637)	499 (179-1267)	0,079	0,406	--
IL-8 basal, upi	188 (119-351)	403 (283-618)	0,089	0,767	--
IL-16, upi 4h após a CEC	1241 (956-2767)	2140 (1265-5703)	0,048	0,859	--
IL-1RA, upi 4h após a CEC	14181 (9916-19524)	20302 (14144-22796)	0,078	0,446	--
MIF, upi 4h após a CEC	7221 (6660-9356)	10851 (7224-14947)	0,021	0,059	0,023
RANTES, upi 4h após a CEC	49528 (41541-59176)	69437 (40039-95821)	0,080	0,451	--
SDF-1, upi 4h após a CEC	4131 (2477-6277)	6584 (3931-10135)	0,075	0,878	--
RNL 4h após a CEC	7,58 (4,42-11,71)	3,79 (2,24-6,82)	0,043	0,105	--
PCR, mg/L 48h após a CEC	118,89 (95,70-193,51)	163,43 (136,59-213,60)	0,077	0,419	--

Os resultados estão apresentados em mediana e intervalos interquartílicos (P25 e P75).

CEC, circulação extracorpórea; ECRHR, Evento Cardiorrespiratório e Hemodinâmico Relevante; $PMAP/PMAS_{POI}$, razão entre a pressão média arterial pulmonar e a sistêmica, no início do período pós-operatório; PCR, proteína C reativa; RNL, razão entre número de neutrófilos e linfócitos em circulação; VPM, volume plaquetário médio.

9. REFERÊNCIAS

1. Lopes AA, Barst RJ, Haworth SG, Rabinovitch M, Al Dabbagh M, del Cerro MJ, et al. Repair of congenital heart disease with associated pulmonary hypertension in children: what are the minimal investigative procedures? Consensus statement from the Congenital Heart Disease and Pediatric Task Forces, Pulmonary Vascular Research Institute (PVRI). *Pulm Circ.* 2014;4(2):330-41.

2. Lopes AA. Pre-operative pulmonary hypertension in congenital heart disease and aspects of Eisenmenger's syndrome. *In*: Beghetti M, Barst RJ, Berger RMF, *et al. Pediatric Pulmonary Hypertension*. Elsevier, Munich, 2011; 187–207.

3. Adatia I, Beghetti M. Immediate postoperative care. *Cardiol Young.* 2009;19(S1):23-7.

4. Latus H, Wagner I, Ostermayer S, Kerst G, Kreuder J, Schranz D, et al. Hemodynamic Evaluation of Children with Persistent or Recurrent Pulmonary Arterial Hypertension Following Complete Repair of Congenital Heart Disease. *Pediatr Cardiol.* 2017;38(7):1342-9.

5. Jančauskaitė D, Rudienė V, Jakutis G, Geenen LW, Roos-Hesselink JW, Gumbienė L. Residual Pulmonary Hypertension more than 20 Years after Repair of Shunt Lesions. *Medicina (Kaunas).* 2020;56(6).

6. Lopes AA, Thomaz AM. When to Operate on Pediatric Patients with Congenital Heart Disease and Pulmonary Hypertension. *Arq Bras Cardiol.* 2017;109(3):183-4.

7. Lopes AA, Rabinovitch M, Chang A. Statements on the management of pulmonary hypertension associated with congenital heart disease. *Cardiol Young.* 2009;19(Suppl 1):1-53.

8. Simonneau G, Montani D, Celermajer DS, Denton CP, Gatzoulis MA, Krowka M, et al. Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* 2019;53(1).

9. Rosenzweig EB, Abman SH, Adatia I, Beghetti M, Bonnet D, Haworth S, et al. Paediatric pulmonary arterial hypertension: updates on definition, classification, diagnostics and management. *Eur Respir J.* 2019;53(1).

10. Abman SH, Hansmann G, Archer SL, Ivy DD, Adatia I, Chung WK, et al. Pediatric Pulmonary Hypertension: Guidelines From the American Heart Association and American Thoracic Society. *Circulation.* 2015;132(21):2037-99.

11. Lopes AA, O'Leary PW. Measurement, interpretation and use of hemodynamic parameters. *Cardiol Young.* 2009;19 Suppl 1:8-12.

12. Thomaz AM, Kajita LJ, Aiello VD, Zorzanelli L, Galas FR, Machado CG, et al. EXPRESS: Parameters associated with outcome in pediatric patients with congenital heart disease and pulmonary hypertension subjected to combined vasodilator and surgical treatments. *Pulm Circ.* 2019:2045894019837885.

13. Rabinovitch M, Keane JF, Norwood WI, Castaneda AR, Reid L. Vascular structure in lung tissue obtained at biopsy correlated with pulmonary hemodynamic findings after repair of congenital heart defects. *Circulation.* 1984;69(4):655-67.

14. Kolte D, Lakshmanan S, Jankowich MD, Brittain EL, Maron BA, Choudhary G. Mild Pulmonary Hypertension Is Associated With Increased Mortality: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Heart Assoc.* 2018;7(18):e009729.

15. Rabinovitch M. Molecular pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *J Clin Invest.* 2008;118(7):2372-9.

16. Rabinovitch M, Guignabert C, Humbert M, Nicolls MR. Inflammation and immunity in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *Circ Res.* 2014;115(1):165-75.

17. Schermuly RT, Ghofrani HA, Wilkins MR, Grimminger F. Mechanisms of disease: pulmonary arterial hypertension. *Nat Rev Cardiol.* 2011;8(8):443-55.

18. Tuder RM. Pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension. *Cell Tissue Res.* 2017;367(3):643-9.

19. HEATH D, EDWARDS JE. The pathology of hypertensive pulmonary vascular disease; a description of six grades of structural changes in the pulmonary arteries with special reference to congenital cardiac septal defects. *Circulation.* 1958;18(4 Part 1):533-47.

20. Rabinovitch M, Haworth SG, Vance Z, Vawter G, Castaneda AR, Nadas AS, et al. Early pulmonary vascular changes in congenital heart disease studied in biopsy tissue. *Hum Pathol.* 1980;11(5 Suppl):499-509.

21. Berghausen EM, Feik L, Zierden M, Vantler M, Rosenkranz S. Key inflammatory pathways underlying vascular remodeling in pulmonary hypertension. *Herz.* 2019;44(2):130-137.

22. Tamosiuniene R, Tian W, Dhillon G, Wang L, Sung YK, Gera L, et al. Regulatory T cells limit vascular endothelial injury and prevent pulmonary hypertension. *Circ Res.* 2011;109(8):867-79.

23. Stacher E, Graham BB, Hunt JM, Gandjeva A, Groshong SD, McLaughlin VV, et al. Modern age pathology of pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012;186(3):261-72.

24. Tuder RM, Groves B, Badesch DB, Voelkel NF. Exuberant endothelial cell growth and elements of inflammation are present in plexiform lesions of pulmonary hypertension. *Am J Pathol.* 1994;144(2):275-85.

25. Pinto RF, Higuchi MeL, Aiello VD. Decreased numbers of T-lymphocytes and predominance of recently recruited macrophages in the walls of peripheral pulmonary arteries from 26 patients with pulmonary hypertension secondary to congenital cardiac shunts. *Cardiovasc Pathol.* 2004;13(5):268-75.

26. Frid MG, Brunetti JA, Burke DL, Carpenter TC, Davie NJ, Reeves JT, et al. Hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling requires recruitment of circulating mesenchymal precursors of a monocyte/macrophage lineage. *Am J Pathol.* 2006;168(2):659-69.

27. Chen G, Zuo S, Tang J, Zuo C, Jia D, Liu Q, et al. Inhibition of CRTH2-mediated Th2 activation attenuates pulmonary hypertension in mice. *J Exp Med.* 2018;215(8):2175-95.

28. Daley E, Emson C, Guignabert C, de Waal Malefyt R, Louten J, Kurup VP, et al. Pulmonary arterial remodeling induced by a Th2 immune response. *J Exp Med.* 2008;205(2):361-72.

29. Zorzanelli L, Maeda NY, Clave MM, Aiello VD, Rabinovitch M, Lopes AA. Serum Cytokines in Young Pediatric Patients with Congenital Cardiac Shunts and Altered Pulmonary Hemodynamics. *Mediators Inflamm*. 2016;2016:7672048.

30. Zorzanelli L, Maeda N, Clavé M, Thomaz A, Galas F, Rabinovitch M, et al. Relation of cytokine profile to clinical and hemodynamic features in young patients with congenital heart disease and pulmonary hypertension. *Am J Cardiol.* 2017;119(1):119-25.

31. Marshall JD, Sauler M, Tonelli A, Rao Y, Bucala R, Lee PJ, et al. Complexity of macrophage migration inhibitory factor (MIF) and other angiogenic biomarkers profiling in pulmonary arterial hypertension. *Pulm Circ.* 2017;7(3):730-3.

32. Ahmed M, Miller E. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) in the development and progression of pulmonary arterial hypertension. *Glob Cardiol Sci Pract.* 2018;2018(2):14.

33. Maeda NY, Aiello VD, Santos PC, Thomaz AM, Kajita LJ, Bydlowski SP, et al. Relation of Macrophage Migration Inhibitory Factor to Pulmonary Hemodynamics and Vascular Structure and Carbamyl-Phosphate Synthetase I Genetic Variations in Pediatric Patients with Congenital Cardiac Shunts. *Mediators Inflamm.* 2019;2019:7305028.

34. Souza MFS, Carvalho ES, Maeda NY, Thomaz AM, Zorzanelli L, Castro CR, et al. Macrophage migration inhibitory factor and chemokine RANTES in young pediatric patients with congenital cardiac communications: Relation to hemodynamic parameters and the presence of Down syndrome. *Cytokine*. 2020;134:155192.

35. Spaeder MC, Carson KA, Vricella LA, Alejo DE, Holmes KW. Impact of the viral respiratory season on postoperative outcomes in children undergoing cardiac surgery. *Pediatr Cardiol.* 2011;32(6):801-6.

36. Eggleston HA, Gunville CF, Miller JI, Sontag MK, Mourani PM. A comparison of characteristics and outcomes in severe human metapneumovirus and respiratory syncytial virus infections in children treated in an intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J.* 2013;32(12):1330-4.

37. Cool CD, Rai PR, Yeager ME, Hernandez-Saavedra D, Serls AE, Bull TM, et al. Expression of human herpesvirus 8 in primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med.* 2003;349(12):1113-22.

38. Humbert M. Mediators involved in HIV-related pulmonary arterial hypertension. *AIDS.* 2008;22:S41-S7.

39. Moorman J, Saad M, Kosseifi S, Krishnaswamy G. Hepatitis C virus and the lung - Implications for therapy. *Chest.* 2005;128(4):2882-92.

40. Jarrett H, Barnett C. HIV-associated pulmonary hypertension. *Curr Opin HIV AIDS.* 2017;12(6):566-71.

41. Zhang B, Luo Y, Liu ML, Wang J, Xu DQ, Dong MQ, et al. Macrophage migration inhibitory factor contributes to hypoxic pulmonary vasoconstriction in rats. *Microvasc Res.* 2012;83(2):205-12.

42. Canter JA, Summar ML, Smith HB, Rice GD, Hall LD, Ritchie MD, et al. Genetic variation in the mitochondrial enzyme carbamyl-phosphate synthetase I predisposes children to increased pulmonary artery pressure following surgical repair of congenital heart defects: a validated genetic association study. *Mitochondrion.* 2007;7(3):204-10.

43. Loukanov T, Hoss K, Tonchev P, Klimpel H, Arnold R, Sebening C, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism (Glu298Asp) and acute pulmonary hypertension post cardiopulmonary bypass in children with congenital cardiac diseases. *Cardiol Young.* 2011;21(2):161-9.

44. Sharma M, Khera S, Sondhi V, Devgan A. A study to determine the prevalence of pulmonary arterial hypertension in children with Down syndrome and congenital heart disease. *Med J Armed Forces India.* 2013;69(3):241-5.

45. Fukushima H, Kosaki K, Sato R, Yagihashi T, Gatayama R, Kodo K, et al. Mechanisms underlying early development of pulmonary vascular obstructive disease in Down syndrome: An imbalance in biosynthesis of thromboxane A2 and prostacyclin. *Am J Med Genet A.* 2010;152A(8):1919-24.

46. Saji T. Clinical characteristics of pulmonary arterial hypertension associated with Down syndrome. *Pediatr Int.* 2014;56(3):297-303.

47. Nasser BA, Mesned AR, Mohamad T, Kabbani MS. Incidence and causes of prolonged mechanical ventilation in children with Down syndrome undergoing cardiac surgery. *J Saudi Heart Assoc.* 2018;30(3):247-53.

48. Vázquez-Antona CA, Lomelí C, Buendía A, Vargas-Barrón J. Pulmonary hypertension in children with Down's syndrome and congenital heart disease. Is it really more severe?. *Arch Cardiol Mex.* 2006;76(1):16-27.

49. Lindberg L, Olsson AK, Jögi P, Jonmarker C. How common is severe pulmonary hypertension after pediatric cardiac surgery? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2002;123(6):1155-63.

50. Kidd L, Driscoll DJ, Gersony WM, Hayes CJ, Keane JF, O'Fallon WM, et al. Second natural history study of congenital heart defects. Results of treatment of patients with ventricular septal defects. *Circulation.* 1993;87(2 Suppl):I38-51.

51. Engelfriet PM, Duffels MG, Möller T, Boersma E, Tijssen JG, Thaulow E, et al. Pulmonary arterial hypertension in adults born with a heart septal defect: the Euro Heart Survey on adult congenital heart disease. *Heart.* 2007;93(6):682-7.

52. Kozik DJ, Tweddell JS. Characterizing the inflammatory response to cardiopulmonary bypass in children. *Ann Thorac Surg.* 2006;81(6):S2347-54.

53. Hirata Y. Cardiopulmonary bypass for pediatric cardiac surgery. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2018;66(2):65-70.

54. Kirklin JK, Westaby S, Blackstone EH, Kirklin JW, Chenoweth DE, Pacifico AD. Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1983;86(6):845-57.

55. Saatvedt K, Lindberg H, Michelsen S, Pedersen T, Geiran OR. Activation of the fibrinolytic, coagulation and plasma kallikrein-kinin systems during and after open heart surgery in children. *Scand J Clin Lab Invest.* 1995;55(4):359-67.

56. Steinberg JB, Kapelanski DP, Olson JD, Weiler JM. Cytokine and complement levels in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1993;106(6):1008-16.

57. Brix-Christensen V, Petersen TK, Ravn HB, Hjortdal VE, Andersen NT, Tønnesen E. Cardiopulmonary bypass elicits a pro- and anti-inflammatory cytokine response and impaired neutrophil chemotaxis in neonatal pigs. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2001;45(4):407-13.

58. Boyle EM, Pohlman TH, Johnson MC, Verrier ED. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the systemic inflammatory response. *Ann Thorac Surg.* 1997;63(1):277-84.

59. Paśnik J, Siniewicz K, Moll JA, Moll J, Baj Z, Sysa A, et al. Effect of cardiopulmonary bypass on neutrophil activity in pediatric open-heart surgery. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2005;53(3):272-7.

60. Asberg AE, Videm V. Inhibition of platelet receptors involved in neutrophil-platelet interaction in model cardiopulmonary bypass. *Artif Organs.* 2007;31(8):617-26.

61. Downing SW, Edmunds LH. Release of vasoactive substances during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1992;54(6):1236-43.

62. Bronicki RA, Hall M. Cardiopulmonary Bypass-Induced Inflammatory Response: Pathophysiology and Treatment. *Pediatr Crit Care Med.* 2016;17(8 Suppl 1):S272-8.

63. Medikonda R, Ong CS, Wadia R, Goswami D, Schwartz J, Wolff L, et al. Trends and Updates on Cardiopulmonary Bypass Setup in Pediatric Cardiac Surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2019.

64. Allan CK, Newburger JW, McGrath E, Elder J, Psoinos C, Laussen PC, et al. The relationship between inflammatory activation and clinical outcome after infant cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg.* 2010;111(5):1244-51.

65. Gorjipour F, Totonchi Z, Gholampour Dehaki M, Hosseini S, Tirgarfakheri K, Mehrabanian M, et al. Serum levels of interleukin-6, interleukin-8, interleukin-10, and tumor necrosis factor-α, renal function biochemical parameters and clinical outcomes in pediatric cardiopulmonary bypass surgery. *Perfusion.* 2019;34(8):651-9.

66. Esper SA, Subramaniam K, Tanaka KA. Pathophysiology of Cardiopulmonary Bypass: Current Strategies for the Prevention and Treatment of Anemia, Coagulopathy, and Organ Dysfunction. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth.* 2014;18(2):161-76.

67. Michalski M, Pągowska-Klimek I, Thiel S, Świerzko AS, Hansen AG, Jensenius JC, et al. Factors involved in initiation and regulation of complement lectin pathway influence postoperative outcome after pediatric cardiac surgery involving cardiopulmonary bypass. *Sci Rep.* 2019;9(1):2930.

68. Boehne M, Sasse M, Karch A, Dziuba F, Horke A, Kaussen T, et al. Systemic inflammatory response syndrome after pediatric congenital heart surgery: Incidence, risk factors, and clinical outcome. *J Card Surg.* 2017;32(2):116-25.

69. Boyle EM, Pohlman TH, Johnson MC, Verrier ED. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: The systemic inflammatory response. *Ann Thorac Surg.* 1997;63(1):277-84.

70. Chen YF, Oparil S. Endothelial dysfunction in the pulmonary vascular bed. *Am J Med Sci.* 2000;320(4):223-32.

71. Giacinto O, Satriano U, Nenna A, Spadaccio C, Lusini M, Mastroianni C, et al. Inflammatory Response and Endothelial Dysfunction Following Cardiopulmonary Bypass: Pathophysiology and Pharmacological Targets. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.* 2019;13(2):158-73.

72. Morita K, Ihnken K, Buckberg GD, Sherman MP, Ignarro LJ. Pulmonary vasoconstriction due to impaired nitric oxide production after cardiopulmonary bypass. *Ann Thoracic Surg.* 1996;61(6):1775-80.

73. Fortier S, DeMaria RG, Lamarche Y, Malo O, Denault A, Desjardins F, et al. Inhaled prostacyclin reduces cardiopulmonary bypass–induced pulmonary endothelial dysfunction via increased cyclic adenosine monophosphate levels. *J Thoracic Cardiovasc Surg.* 2004;128(1):109-16.

74. Wessel DL, Adatia I, Giglia TM, Thompson JE, Kulik TJ. Use of inhaled nitric oxide and acetylcholine in the evaluation of pulmonary hypertension and endothelial function after cardiopulmonary bypass. *Circulation.* 1993;88(5 Pt 1):2128-38.

75. Taylor MB, Laussen PC. Fundamentals of management of acute postoperative pulmonary hypertension. *Pediatr Crit Care Med.* 2010;11(2 Suppl):S27-9.

76. Adatia I, Beghetti M. Early postoperative care of patients with pulmonary hypertension associated with congenital cardiac disease. *Cardiol Young.* 2009;19(4):315-9.

77. Ruel M, Khan TA, Voisine P, Bianchi C, Sellke FW. Vasomotor dysfunction after cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2004;26(5):1002-14.

78. Haddad F, Doyle R, Murphy DJ, Hunt SA. Right ventricular function in cardiovascular disease, part II: pathophysiology, clinical importance, and management of right ventricular failure. *Circulation.* 2008;117(13):1717-31.

79. Vonk-Noordegraaf A, Haddad F, Chin KM, Forfia PR, Kawut SM, Lumens J, et al. Right heart adaptation to pulmonary arterial hypertension: physiology and pathobiology. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(25 Supplement):D22-D33.

80. Kaestner M, Schranz D, Warnecke G, Apitz C, Hansmann G, Miera O. Pulmonary hypertension in the intensive care unit. Expert consensus statement on the diagnosis and treatment of paediatric pulmonary hypertension. The European Paediatric Pulmonary Vascular Disease Network, endorsed by ISHLT and DGPK. *Heart.* 2016;102(Suppl 2):ii57-ii66.

81. Weir EK, Archer SL. The mechanism of acute hypoxic pulmonary vasoconstriction: the tale of two channels. *FASEB J.* 1995;9(2):183-9.

82. Hislop A, Muir DC, Jacobsen M, Simon G, Reid L. Postnatal growth and function of the pre-acinar airways. *Thorax.* 1972;27(3):265-74.

83. Schindler MB, Bohn DJ, Bryan AC, Cutz E, Rabinovitch M. Increased respiratory system resistance and bronchial smooth muscle hypertrophy in children with acute postoperative pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152(4 Pt 1):1347-52.

84. Schulze-Neick I, Hartenstein P, Li J, Stiller B, Nagdyman N, Hübler M, et al. Intravenous sildenafil is a potent pulmonary vasodilator in children with congenital heart disease. *Circulation.* 2003;108(10_suppl_1):II-167.

85. Stocker C, Penny DJ, Brizard CP, Cochrane AD, Soto R, Shekerdemian LS. Intravenous sildenafil and inhaled nitric oxide: a randomised trial in infants after cardiac surgery. *Intensive Care Med.* 2003;29(11):1996-2003.

86. Xu Z, Zhu L, Liu X, Gong X, Gattrell W, Liu J. Iloprost for children with pulmonary hypertension after surgery to correct congenital heart disease. *Pediatr Pulmonol.* 2015;50(6):588-95.

87. Zhang B, Shen M, Xu M, Liu LL, Luo Y, Xu DQ, et al. Role of macrophage migration inhibitory factor in the proliferation of smooth muscle cell in pulmonary hypertension. *Mediators Inflamm.* 2012;2012:840737.

88. Barnwal NK, Umbarkar SR, Sarkar MS, Dias RJ. Randomized comparative study of intravenous infusion of three different fixed doses of milrinone in pediatric patients with pulmonary hypertension undergoing open heart surgery. *Ann Card Anaesth.* 2017;20(3):318-22.

89. Philip J, Burgman C, Bavare A, Akcan-Arikan A, Price JF, Adachi I, et al. Nature of the underlying heart disease affects survival in pediatric patients undergoing extracorporeal cardiopulmonary resuscitation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2014;148(5):2367-72.

90. Brunner N, de Jesus Perez VA, Richter A, Haddad F, Denault A, Rojas V, et al. Perioperative pharmacological management of pulmonary hypertensive crisis during congenital heart surgery. *Pulm Circ.* 2014;4(1):10-24.

91. Hopkins RA, Bull C, Haworth SG, De Leval MR, Stark J. Pulmonary hypertensive crises following surgery for congenital hart defects in young children. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1991;5(12):628-34.

92. Bando K, Turrentine MW, Sharp TG, Sekine Y, Aufiero TX, Sun K, et al. Pulmonary hypertension after operations for congenital heart disease: analysis of risk factors and management. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1996;112(6):1600-7; discussion 7-9.

93. Miller OI, Tang SF, Keech A, Pigott NB, Beller E, Celermajer DS. Inhaled nitric oxide and prevention of pulmonary hypertension after congenital heart surgery: a randomised double-blind study. *Lancet.* 2000;356(9240):1464-9.

94. Gorenflo M, Gu H, Xu Z. Peri-operative pulmonary hypertension in paediatric patients: current strategies in children with congenital heart disease. *Cardiology.* 2010;116(1):10-7.

95. Loukanov T, Bucsenez D, Springer W, Sebening C, Rauch H, Roesch E, et al. Comparison of inhaled nitric oxide with aerosolized iloprost for treatment of pulmonary hypertension in children after cardiopulmonary bypass surgery. *Clin Res Cardiol.* 2011;100(7):595-602.

96. Hofer A HM, Kern C, Grohmann E,Sames-Dolzer E, Gombotz H, Meier J. A Prospective Randomised Study of Postoperative Prophylactic Application of Sildenafil After Pediatric Cardiac Surgery. *J Clin Exp Cardiolog.* 2015;6:8.

97. Sarısoy Ö, Ayabakan C, Tokel K, Özkan M, Türköz R, Aşlamacı S. Long-term outcomes in patients who underwent surgical correction for atrioventricular septal defect. *Anatol J Cardiol.* 2018;20(4):229-34.

98. Sikirica M, Iorga SR, Bancroft T, Potash J. The economic burden of pulmonary arterial hypertension (PAH) in the US on payers and patients. *BMC Health Serv Res.* 2014;14:676.

99. de Sá Ribeiro ZV, Tsutsui JM, dos Anjos Miranda R, Mohry S, Mathias W, Lopes AA. Ecodopplercardiografia e Parâmetros Hemodinâmicos em Cardiopatias Congênitas com Hiperfluxo Pulmonar. *Arq Bras Cardiol.* 2010;94(5):592-600.

100. Rivera IR, Moisés VA, de Paola AA, Carvalho AC. Echocardiographic assessment of the pulmonary venous flow. An indicator of increased pulmonary flow in congenital cardiac malformations. *Arq Bras Cardiol.* 2002;78(6):537-44.

101. Koestenberger M, Ravekes W, Everett AD, Stueger HP, Heinzl B, Gamillscheg A, et al. Right ventricular function in infants, children and adolescents: reference values of the tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE) in 640 healthy patients and calculation of z score values. *J Am Soc Echocardiogr.* 2009;22(6):715-9.

102. Koestenberger M, Avian A, Cantinotti M, Hansmann G, Network EPPVD. Tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE) in pediatric pulmonary hypertension: Integrating right ventricular ejection efficiency (RVEe) into advanced multi-parametric imaging. *Int J Cardiol.* 2019;274:296-8.

103. Levy PT, Sanchez Mejia AA, Machefsky A, Fowler S, Holland MR, Singh GK. Normal ranges of right ventricular systolic and diastolic strain measures in children: a systematic review and meta-analysis. *J Am Soc Echocardiogr.* 2014;27(5):549-60, e3.

104. Gaies MG, Gurney JG, Yen AH, Napoli ML, Gajarski RJ, Ohye RG, et al. Vasoactive-inotropic score as a predictor of morbidity and mortality in infants after cardiopulmonary bypass. *Pediatr Crit Care Med.* 2010;11(2):234-8.

105. Gaies MG, Jeffries HE, Niebler RA, Pasquali SK, Donohue JE, Yu S, et al. Vasoactive-inotropic score is associated with outcome after infant cardiac surgery: an analysis from the Pediatric Cardiac Critical Care Consortium and Virtual PICU System Registries. *Pediatr Crit Care Med.* 2014;15(6):529-37.

106. Bertapelli F, Agiovlasitis S, Machado MR, do Val Roso R, Guerra-Junior G. Growth charts for Brazilian children with Down syndrome: Birth to 20 years of age. *J Epidemiol.* 2017;27(6):265-73.

107. Galiè N, Humbert M, Vachiery JL, Gibbs S, Lang I, Torbicki A, et al. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J.* 2016;37(1):67-119.

108. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr.* 2015;28(1):1-39.e14.

109. Xu H, Sun Y, Zhang S. The Relationship Between Neutrophil to Lymphocyte Ratio and Clinical Outcome in Pediatric Patients After Cardiopulmonary Bypass Surgery: A Retrospective Study. *Front Pediatr.* 2019;7:308.

110. Forget P, Khalifa C, Defour JP, Latinne D, Van Pel MC, De Kock M. What is the normal value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio? *BMC Res Notes.* 2017;10(1):12.

111. DiLorenzo MP, Bhatt SM, Mercer-Rosa L. How best to assess right ventricular function by echocardiography. *Cardiol Young.* 2015;25(8):1473-81.

112. Grau CRPdC. Análise ecocardiográfica evolutiva tardia da função ventricular direita no pós-operatório da tetralogia de Fallot: associação com alterações histopatológicas preexistentes do miocádio [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina; 2018.

113. Burke DL, Frid MG, Kunrath CL, Karoor V, Anwar A, Wagner BD, et al. Sustained hypoxia promotes the development of a pulmonary artery-specific chronic inflammatory microenvironment. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2009;297(2):L238-50.

114. Chandler WL, Velan T. Secretion of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor 1 during cardiopulmonary bypass. *Thromb Res.* 2003;112(3):185-92.

115. Tu R, Peng Y, Wang Y, Tang X, Wang S. The stromal cell-derived factor 1/C-X-C chemokine receptor type 4 axis is important in neutrophil migration caused by cardiopulmonary bypass in children. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2018;26(3):431-7.

116. Lievens D, Zernecke A, Seijkens T, Soehnlein O, Beckers L, Munnix IC, et al. Platelet CD40L mediates thrombotic and inflammatory processes in atherosclerosis. *Blood.* 2010;116(20):4317-27.

117. Büchner K, Henn V, Gräfe M, de Boer OJ, Becker AE, Kroczek RA. CD40 ligand is selectively expressed on CD4+ T cells and platelets: implications for CD40-CD40L signalling in atherosclerosis. *J Pathol.* 2003;201(2):288-95.

118. Nakano M, Fujii T, Hashimoto M, Yukawa N, Yoshifuji H, Ohmura K, et al. Type I interferon induces CX3CL1 (fractalkine) and CCL5 (RANTES) production in human pulmonary vascular endothelial cells. *Clin Exp Immunol.* 2012;170(1):94-100.

119. Bakogiannis C, Sachse M, Stamatelopoulos K, Stellos K. Platelet-derived chemokines in inflammation and atherosclerosis. *Cytokine.* 2019;122:154157.

120. Lotan D, Zilberman D, Dagan O, Keller N, Ben-Abraham R, Weinbroum AA, et al. Beta-chemokine secretion patterns in relation to clinical course and outcome in children after cardiopulmonary bypass: continuing the search to abrogate systemic inflammatory response. *Ann Thorac Surg.* 2001;71(1):233-7.

121. Ide H, Kakiuchi T, Furuta N, Matsumoto H, Sudo K, Furuse A, et al. The effect of cardiopulmonary bypass on T-cells and their subpopulations--changes in their proportion in peripheral blood. *Nihon Kyobu Geka Gakkai Zasshi.* 1987;35(8):1089-95.

122. Natanov R, Gueler F, Falk CS, Kühn C, Maus U, Boyle EC, et al. Blood cytokine expression correlates with early multi-organ damage in a mouse model of moderate hypothermia with circulatory arrest using cardiopulmonary bypass. *PLoS One.* 2018;13(10):e0205437.

123. Boneberg EM, Hartung T. Molecular aspects of anti-inflammatory action of G-CSF. *Inflamm Res.* 2002;51(3):119-28.

124. Parmigiani A, Lichtenheld M, Pahwa S. IL-21 reduces production of pro-inflammatory cytokines by activated CD8 T cells (44.26). *J Immunol.* 2012;188(1 Supplement):44.26.

125. Korniluk A, Koper-Lenkiewicz OM, Kamińska J, Kemona H, Dymicka-Piekarska V. Mean Platelet Volume (MPV): New Perspectives for an Old Marker in the Course and Prognosis of Inflammatory Conditions. *Mediators Inflamm.* 2019;2019:9213074.

126. McBride WT, Armstrong MA, Gilliland H, McMurray TJ. The balance of pro and anti-inflammatory cytokines in plasma and bronchoalveolar lavage (BAL) at paediatric cardiac surgery. *Cytokine.* 1996;8(9):724-9.

127. Kawamura T, Wakusawa R, Inada K. Interleukin-10 and interleukin-1 receptor antagonists increase during cardiac surgery. *Can J Anaesth.* 1997;44(1):38-42.

128. Arend WP. The balance between IL-1 and IL-1Ra in disease. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2002;13(4-5):323-40.

129. Justus G, Walker C, Rosenthal LM, Berger F, Miera O, Schmitt KRL. Immunodepression after CPB: Cytokine dynamics and clinics after pediatric cardiac surgery - A prospective trial. *Cytokine.* 2019;122:154018.

130. Voelkel NF, Tuder RM, Bridges J, Arend WP. Interleukin-1 receptor antagonist treatment reduces pulmonary hypertension generated in rats by monocrotaline. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1994;11(6):664-75.

131. Chada M, Nögel S, Schmidt AM, Rückel A, Bosselmann S, Walther J, et al. Anakinra (IL-1R antagonist) lowers pulmonary artery pressure in a neonatal surfactant depleted piglet model. *Pediatr Pulmonol.* 2008;43(9):851-7.

132. Bui CB, Kolodziej M, Lamanna E, Elgass K, Sehgal A, Rudloff I, et al. Interleukin-1 Receptor Antagonist Protects Newborn Mice Against Pulmonary Hypertension. *Front Immunol.* 2019;10:1480.

133. Calandra T, Roger T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2003;3(10):791-800.

134. Riedemann NC, Guo RF, Ward PA. Novel strategies for the treatment of sepsis. *Nat Med.* 2003;9(5):517-24.

135. Tu L, Huertas A, Hiress ML, Ricard N, Phan C, Fadel E, et al. MIF/CD74-Dependent Interleukin-6 And Monocyte Chemoattractant Protein-1 Secretion By Pulmonary Endothelial Cells In Idiopathic Pulmonary Hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;187:A1739.

136. Le Hiress M, Tu L, Ricard N, Phan C, Thuillet R, Fadel E, et al. Proinflammatory Signature of the Dysfunctional Endothelium in Pulmonary Hypertension. Role of the Macrophage Migration Inhibitory Factor/CD74 Complex. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015;192(8):983-97.

137. Haworth SG, Hislop AA. Treatment and survival in children with pulmonary arterial hypertension: the UK Pulmonary Hypertension Service for Children 2001-2006. *Heart.* 2009;95(4):312-7.

138. Manes A, Palazzini M, Leci E, Bacchi Reggiani ML, Branzi A, Galiè N. Current era survival of patients with pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease: a comparison between clinical subgroups. *Eur Heart J.* 2014;35(11):716-24.

10. APÊNDICE

Apêndice A - Estudo paralelo publicado durante o doutorado

Cytokine 134 (2020) 155192

Contents lists available at ScienceDirect

Cytokine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cytokine

Macrophage migration inhibitory factor and chemokine RANTES in young pediatric patients with congenital cardiac communications: Relation to hemodynamic parameters and the presence of Down syndrome

Maria Francilene S. Souza[a,1], Eloisa S. Carvalho[a], Nair Y. Maeda[b], Ana M. Thomaz[a], Leína Zorzanelli[a], Claudia R. Castro[a], Juliana Pereira[c], Antonio Augusto Lopes[a,*]

[a] Heart Institute, University of São Paulo School of Medicine, São Paulo, Brazil
[b] Pró-Sangue Foundation, São Paulo, Brazil
[c] Laboratory of Medical Investigation on Pathogenesis and Targeted Therapy in Onco-immuno-hematology (LIM-31), University of São Paulo, São Paulo, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Chemokines
MIF
CCL5/RANTES
Congenital heart disease
Down syndrome
Pulmonary hypertension

ABSTRACT

Inflammation and immunity are central in the pathobiology of pulmonary vascular disorders. Preliminary headway has been made in understanding the relationships between inflammatory proteins and clinical parameters in pediatric congenital heart disease. In this study, we analyzed serum levels of macrophage migration inhibitory factor (MIF) and regulated on activation normal T cell expressed and secreted chemokine (RANTES) in 87 patients with unrestrictive congenital cardiac communications and signs of pulmonary hypertension (age 2–36 months) and 50 pediatric controls. They were investigated in relation to clinical and hemodynamic parameters and the presence of Down syndrome. Hemodynamics was assessed by transthoracic Doppler echocardiography and cardiac catheterization. Chemokines were analyzed in serum using a chemiluminescence assay. The highest MIF levels were observed in very young subjects with heightened pulmonary vascular resistance but who presented a positive response to vasodilator challenge with inhaled nitric oxide. In contrast, RANTES levels were higher in patients with pulmonary overcirculation and congestion, correlating nonlinearly with pulmonary blood flow. Levels of both chemokines were higher in subjects with Down syndrome than in nonsyndromic individuals, but the difference was observed only in patients, not in the control group. In patients with Down syndrome, there was a direct relationship between preoperative serum MIF and the level of pulmonary artery pressure observed 6 months after surgical repair of cardiac anomalies. Thus, it was interesting to observe that MIF, which is key in the innate immune response and chemokine RANTES, which is highly expressed in respiratory viral infections were related to clinical and hemodynamic abnormalities associated with pediatric congenital heart disease.

1. Introduction

Inflammation and an altered immune response play a key role in the pathogenesis of pulmonary vascular disorders [1,2]. This has been demonstrated in pulmonary hypertension in general, and more specifically in pediatric pulmonary hypertension, in the human clinical setting and experimental models [3–5]. There have been studies focusing on specific etiologies of pediatric pulmonary hypertension [6], such as congenital heart disease [7,8].

Macrophage migration inhibitory factor (MIF) and regulated on activation normal T cell expressed and secreted chemokine (CCL5/RANTES) are representative members of a large list of inflammatory proteins and receptors involved in cellular growth and inhibition of apoptosis, extracellular matrix deposition and vascular remodeling in general. Their role in pulmonary vascular remodeling has been consistently demonstrated [9–12]. MIF is a noncanonical ligand of CXC chemokine receptors (CXCR2, CXCR4 and the CXCR2/CD74 complex), leading to the activation of signaling pathways that results in the induction of vascular smooth muscle cell proliferation and inhibition of endothelial cell apoptosis. It is also associated with the recruitment of peripheral blood mononuclear cells and endothelial cell transition towards a proinflammatory phenotype [13–15]. RANTES is a CC

* Corresponding author at: Dept. Pediatric Cardiology and Adult Congenital Heart Disease, Heart Institute (InCor) – HC.FMUSP, Av. Dr. Eneas de Carvalho Aguiar, 44, 05403-000 São Paulo Brazil.
E-mail address: aablopes@usp.br (A.A. Lopes).
[1] Part of a doctoral thesis by Maria F. Souza to the Program in Cardiology, University of São Paulo School of Medicine, São Paulo, Brazil.

https://doi.org/10.1016/j.cyto.2020.155192
Received 2 March 2020; Received in revised form 16 June 2020; Accepted 4 July 2020
1043-4666/ © 2020 Published by Elsevier Ltd.

chemokine acting via the CCR1 and CCR5 receptors as an important chemoattractant for monocytes and T cells [16,17], which constitute the main perivascular cell population in pulmonary arterial hypertension. The chemokine RANTES is produced by human pulmonary vascular endothelial cells under proinflammatory conditions [10], in addition to its expression by activated T cells. It is involved in vascular smooth muscle cell proliferation in the systemic [18] and pulmonary circulation [11].

We recently investigated serum levels of cytokines, chemokines and related molecules in pediatric patients with congenital systemic-to-pulmonary shunts and pulmonary hypertension [19,20]. Among the proteins that were analyzed, MIF and RANTES were the ones most closely related to the clinical presentation and parameters of disease severity. However, in view of the relatively small patient populations, it was difficult to draw consistent conclusions about their relation to pulmonary hemodynamics. This was particularly true for the chemokine RANTES. In another study on the circulating levels of inflammatory mediators in children with congenital cardiac shunts (not including MIF and RANTES), the authors did not observe any significant correlation between pulmonary hemodynamics and the proteins under investigation [21]. Similarly, they did have limitations in terms of the number of patients included in specific protein analyses.

Therefore, we carried out the present prospective study to specifically analyze the relationships of MIF and the chemokine RANTES with pulmonary hemodynamics in a larger population of young pediatric patients with systemic-to-pulmonary shunts and pediatric controls. The study population was large enough to allow comparisons between patients with and without Down syndrome. This was considered necessary due to the high prevalence of this syndrome in the aforementioned population and the possibility of altered immune response in affected individuals [22]. In addition to analyzing data at baseline, we investigated possible correlations of preoperative clinical parameters and the aforementioned cytokines with the level of pulmonary arterial pressure assessed by echocardiography 6 months after surgical treatment of cardiac anomalies.

2. Methods

2.1. Patients and study groups

Patients were from the Heart Institute (InCor), University of São Paulo School of Medicine, São Paulo, Brazil. They were enrolled from March 2012 to October 2018 based on the following criteria: age up to 3 years; the presence of unrestrictive communications between the cardiac chambers and/or the great arteries, in the absence of pulmonary stenosis; hearts with biventricular physiology; clinical features suggestive of at least moderately elevated pulmonary arterial pressure; the absence of extracardiac syndromes other than Down syndrome; and the absence of any signs of inflammatory or infectious diseases. Neonates, patients under intensive care, those with relevant comorbidities, and those with restrictive cardiac communications or complex heart anomalies were not included. Patients fulfilling these criteria corresponded to 20–25% of pediatric subjects with congenital cardiac septal defects referred to the Heart Institute for surgical treatment. Having met the inclusion criteria, with informed consent signed by family members, patients entered the study consecutively and were divided into 2 groups according to the clinical presentation: High PBF (high pulmonary blood flow), corresponding to subjects with a clinical history of congestive heart failure and failure to thrive, with clinical signs of pulmonary congestion eventually requiring diuretic therapy, generally with an enlarged heart on chest radiography; and High PVR (high pulmonary vascular resistance), consisting of patients without these features, thus suggesting variable degrees of precapillary pulmonary vascular obstruction. The characterization of clinical presentation was performed at bedside by three independent physicians prior to the completion of diagnostic investigation (echocardiography and cardiac catheterization). These clinical profiles, corresponding, respectively, to the presence and absence of pulmonary overcirculation, have been taken into consideration for patient assignment to cardiac catheterization and decision about surgical treatment in tertiary institutions [23,24]. High PBF patients are typically assigned to surgery based on noninvasive diagnostic evaluation, while High PVR subjects are generally subjected to cardiac catheterization prior to operation. Pediatric controls with age range as close as possible to that of patients were recruited from the same geographic area and screened at the Heart Institute. This group was made up of subjects with Down syndrome as well, but with no signs of altered pulmonary hemodynamics. The study protocol was approved by the Institutional Scientific and Ethics Committee (CEP nos. 0502.11 and 2.068.696).

2.2. General diagnostic and hemodynamic data

Parameters such as age, sex, weight, height, peripheral oxygen saturation (pulse oximetry) and the presence or absence of Down syndrome were computed for all patients. In addition to providing detailed anatomic data, transthoracic Doppler echocardiography was used to estimate the pulmonary-to-systemic blood flow ratio (Qp/Qs) according to previously described methodology [25,26]. Cardiac catheterization was performed only in patients with a High PVR clinical profile to confirm whether pulmonary vascular resistance was elevated and to measure its decline during nitric oxide inhalation (acute pulmonary vasodilation test). Compared to High PBF subjects, High PVR patients frequently had bidirectional rather than left-to-right shunting across the cardiac septal defects and less pronounced enlargement of left cardiac chambers at precatheterization echo evaluation. Catheterization was performed under general anesthesia and mechanical ventilation. Pulmonary and systemic blood flow were determined using the Fick principle and used for the assessment of pulmonary and systemic vascular resistance (expressed as Wood units $\times$ m^2) [27]. The pulmonary-to-systemic vascular resistance ratio was subsequently calculated. The use of this ratio as an additional parameter was important because it can be obtained regardless of the level of oxygen consumption, which is a potential source of error while calculating blood flow by the Fick method [27]. Parameters were obtained at baseline (21–25% oxygen) and after 10 min of nitric oxide inhalation (40 ppm, in the presence of 40% oxygen).

2.3. Chemokines

Serum samples were obtained from peripheral venous blood and stored at −80 °C until use. MIF and the chemokine RANTES were analyzed using a human cytokine detection kit (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). After protein immobilization on nitrocellulose membranes, processing (immunoblotting) was carried out using specific antibodies as previously described [28]. Chemiluminescence was used for the semiquantitative assessment of MIF and RANTES levels in serum (Fig. 1). For each protein, the average signal of a pair of duplicate spots (dot blots) was normalized using internal controls, and the results are expressed as units of pixel intensity (upi). The inter- and intra-assay coefficients of variation were 3.7% and 2.0%, respectively.

2.4. Postoperative pulmonary arterial pressure

Systolic pulmonary artery pressure was assessed by transthoracic echocardiography 6 months after surgical repair of cardiac lesions. Because measurements are based on the tricuspid regurgitation peak velocity, parameter obtainment was not possible in patients with absent or negligible tricuspid insufficiency. An estimated pulmonary artery systolic pressure greater than 40 mmHg (which corresponds to a tricuspid regurgitation peak velocity of 3.15 m/s) was considered suggestive of persistent (residual) pulmonary hypertension [29]. Preoperative clinical parameters as well as the circulating levels of MIF and

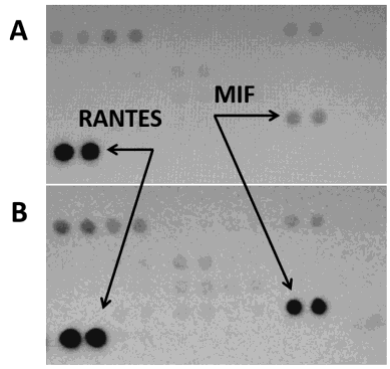


Fig. 1. Representative dot blots showing chemiluminescence signals for serum macrophage migration inhibitory factor (MIF) and regulated on activation normal T cell expressed and secreted chemokine (RANTES) analyzed in duplicate. In A, healthy pediatric control. In B, a 9-month-old patient with atrioventricular canal presented phenotypic features of Down syndrome and a High PVR clinical profile. Pulmonary vascular resistance was 5.3 units × m^2, decreasing to 1.8 units × m^2 during nitric oxide inhalation. Markedly increased serum MIF but only mildly elevated RANTES level were observed in this patient compared to control.

RANTES proteins were tested for a possible correlation with postoperative pulmonary arterial pressure. Univariate and multivariate analyses were used for this purpose.

2.5. Data obtainment

In this study, preoperative and postoperative assessments (responsible authors, MFS, ESC, AMT, LZ and CRC) and laboratory analyses (NYM) were carried out in a blinded fashion.

2.6. Statistical analysis

Numeric variables were tested for closeness to normal (Gaussian) distribution, and the results are expressed as means with SE or median values with interquartile range. When appropriate, analyses were performed after Box-Cox transformation. Categorical variables are presented as the absolute number of cases and percentages or proportions. Differences between groups were analyzed using the Student's "t" test or the Mann-Whitney test (numeric variables, 2 groups), ANOVA (numeric variables, more than 2 groups) or the chi-square family of tests (categorical variables). Group and subgroup analyses requiring the inclusion of covariates were carried out using the general linear model, and results are presented as adjusted means with SE. The association between variables was tested using linear and nonlinear regression analyses. Outcome analysis (i.e., factors with potential impact on postoperative pulmonary arterial pressure) was performed using univariate and multivariate regression modelling and receiver operating characteristic curves. In all procedures, 0.05 was adopted as significance level. All tests were performed using the IBM SPSS statistical software (version 25, Armonk, NY, USA).

3. Results

Eighty-seven patients were enrolled, within an age range of 2–36 months (11 [7–17] months, median with interquartile range) and an overall prevalence of Down syndrome of 65.5%. Fifty pediatric controls were included as well (age 1 to 38 months, 17 [11–25] months, 40.0% prevalence of Down syndrome). The demographic and diagnostic features of High PVR and High PBF patients are shown in Table 1. Patients initially classified as High PBF were subsequently shown to have higher pulmonary-to-systemic blood flow ratio and higher peripheral oxygen saturation compared to High PVR subjects. Patient age, the percentage of cases with Down syndrome and the type of cardiac communication did not differ between the groups. For the High PVR group, increased pulmonary vascular resistance was confirmed by cardiac catheterization, with an average decline of 27% during nitric oxide inhalation (Table 2).

Table 1
Demographic and diagnostic data in the study groups.

	High PVR (n = 18)	High PBF (n = 69)	p value
Age, months	13.0 (8.5–26.0)	10.0 (7.0–14.5)	0.083*
Weight, Kg	6.45 (5.55–10.10)	6.30 (5.41–7.50)	0.283*
Height, cm	68 (62–82)	67 (62–73)	0.398*
Oxygen saturation, %	92 (89–96)	97 (94–98)	0.001*
Sex, M:F	5:13	24:45	0.779†
Down syndrome, n (%)	13 (72.2)	44 (63.8)	0.694†
Pulmonary-to-systemic blood flow ratio‡	2.00 (1.35–2.60)	2.50 (1.80–3.25)	0.043*
Cardiac communications			
Post-tricuspid except atrioventricular canal, n (%)	9 (50.0)	41 (59.4)	0.651†
Atrioventricular canal, n (%)	9 (50.0)	28 (40.6)	

Numeric variables are presented as median with interquartile range.
* Mann-Whitney test.
† Chi-square test.
‡ Transthoracic echocardiographic assessment.

In the control group, i.e., individuals not presenting any signs of altered systemic or pulmonary hemodynamics, serum levels of MIF and RANTES did not differ between subjects with (n = 20) and without (n = 30) Down syndrome (p = 0.550 and p = 0.608 for the differences in MIF and RANTES concentrations, respectively). For the entire patient population, serum MIF was only slightly (not significantly) elevated compared to controls (Fig. 2A). However, the MIF concentration tended to decrease with increasing age (Fig. 3A). This was particularly true for High PVR subjects (Fig. 3B). Therefore, we used age as a covariate in subsequent analyses whenever appropriate to improve prediction. For the High PVR group, prediction (MIF level) was further improved by including pulmonary vascular response to inhaled nitric oxide (decrease from baseline in the pulmonary-to-systemic vascular resistance ratio) in the model: MIF ~ age + magnitude of pulmonary vasodilation, p = 0.006. The relationship between the clinical presentation and serum MIF is summarized in Fig. 2B and C. The High PVR clinical profile, which was associated with elevated pulmonary vascular resistance at baseline, and the presence of Down syndrome were independently associated with higher MIF levels in serum. A representative case is shown in Fig. 1.

Serum RANTES was increased in patients compared to controls (Fig. 4A) and was nonlinearly related to pulmonary blood flow. Moderately elevated RANTES levels were seen in patients with the highest averaged pulmonary blood flow, while for subjects in the upper tertile of RANTES, pulmonary flow was less impressively increased (Fig. 5A). Therefore, we used pulmonary blood flow as a covariate to analyze the relationship between circulating RANTES levels and the clinical presentation, i.e., High PVR versus High PBF profile, and the presence versus the absence of Down syndrome. Fig. 4B shows that the highest RANTES levels were observed in subjects with Down syndrome with High PBF presentation. The relation of serum RANTES to Down syndrome was further suggested by the increasing percentage of syndromic patients across the RANTES tertiles: 55.2%, 69.0% and 72.4% in the lower, middle and upper tertile, respectively. The relationship between

Table 2
Cardiac catheterization data of patients with clinical features suggesting elevated pulmonary vascular resistance (High PVR, n = 18).

	Basal	Nitric oxide	p value
Mean pulmonary arterial pressure (mmHg) [§]	52 (43–66)	41 (32–61)	0.004[‡]
Mean systemic arterial pressure (mmHg) [§]	63 (56–72)	61 (52–74)	0.600[‡]
Pulmonary vascular resistance (units × m^2) [§]	5.25 (4.28–8.00)	3.85 (2.43–5.83)	< 0.001[‡]
Pulmonary-to-systemic vascular resistance ratio [§]	0.41 (0.28–0.54)	0.27 (0.17–0.42)	0.001[‡]

Variables are presented as median and interquartile range.
[‡] Wilcoxon test.
[§] Normal pulmonary hemodynamics in the pediatric population is defined as a mean pulmonary arterial pressure of ≤20 mmHg with a pulmonary vascular resistance of < 3.00 Wood units × m^2. Pulmonary vascular resistance is usually ~10% of the systemic vascular resistance (a ratio of ~0.10) [30].

RANTES and pulmonary blood flow specifically for the Down syndrome group is shown in Fig. 5B. A nonlinear pattern was also suggested.

Reliable echocardiographic recordings of the tricuspid regurgitation jet were obtained from 71 patients 6 months after surgical repair of cardiac communications, making it possible to estimate pulmonary artery systolic pressure. Univariate regression analysis showed that the presence of Down syndrome, lower oxygen saturation at baseline and higher preoperative serum MIF were associated with higher levels of pulmonary artery pressure postoperatively (Table 3). However, only Down syndrome and serum MIF remained in the multivariate regression model using the stepwise procedure for variable inclusion. Fig. 6A demonstrates that the relationship between preoperative MIF and postoperative pulmonary pressure was evident only for Down syndrome subjects. Of particular interest was the role of low preoperative MIF in predicting the normalization of pulmonary artery pressure (Fig. 6B). All of the Down syndrome patients with a preoperative serum MIF of ≤72.6 upi^0.5 (i.e., those in the lower MIF quartile) had normal pulmonary pressure 6 months after surgery.

4. Discussion

In this study, we used strategies that, in our view, facilitated the analysis and interpretation of results. We selected a relatively large number of patients, focused on a narrow age range, included relatively simple congenital cardiac septal defects, and assessed the hemodynamic status (therefore defining groups) taking into account clinical, echocardiographic and cardiac catheterization parameters. Furthermore, Box-Cox transformation, when appropriate, helped obtain normally distributed variables, which was required to use more robust parametric statistics. Having adopted these strategies, we demonstrated that heightened serum levels of RANTES and MIF were associated with clinical features suggestive of the presence and absence of pulmonary overcirculation, respectively, and Down syndrome. There was a nonlinear relationship between RANTES and pulmonary blood flow, suggesting the existence of subpopulations of patients with a "low-flow" profile (low-RANTES and high-RANTES subjects), an observation with potential pathophysiological implications. Serum MIF decreased with increasing age and correlated positively with pulmonary vascular response to inhaled nitric oxide. To the best of our knowledge, the direct relationship we observed between preoperative serum MIF and postoperative pulmonary arterial pressure in Down syndrome patients has not been reported thus far.

The increase in circulating MIF in our patients with High PVR profile was not surprising at first sight, in view of the large amount of evidence connecting this protein to vascular remodeling in clinical and experimental pulmonary hypertension [12]. Nevertheless, in the specific setting of pediatric pulmonary hypertension associated with congenital heart disease, there are points deserving consideration. The majority of patients with high MIF levels were very young (< 1 year of age) and had increased pulmonary vascular resistance with a reactive pulmonary microcirculation, as indicated by the significant vasodilation in response to inhaled nitric oxide. We have previously demonstrated that some of these patients have severe hypertrophy of the medial layer of small preacinar and intra-acinar pulmonary arteries, sometimes with a wall thickness Z-score of > 20.0 [20]. In recent studies, MIF was shown to induce pulmonary artery smooth muscle cell growth via ERK 1/2 and JNK phosphorylation (hypoxic pulmonary hypertension in rats) [13] in addition to enhancing pulmonary

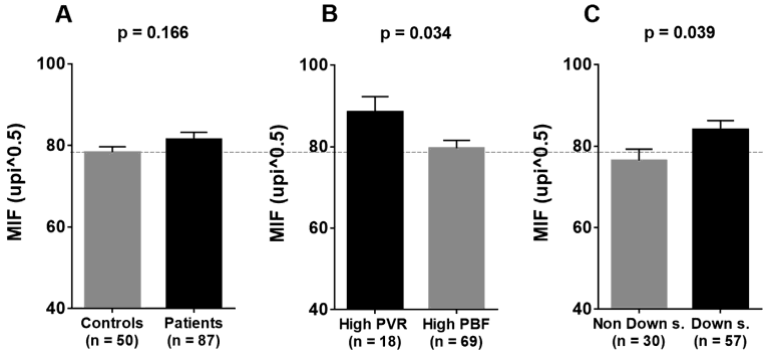


Fig. 2. Serum macrophage migration inhibitory factor (MIF) in pediatric controls, patients and patient groups. MIF levels were analyzed after Box-Cox transformation and expressed as units of pixel intensity (upi) ^0.5. Data are presented as means with SE (A and C, analysis using the "t" test) or age-adjusted means with SE (B, analysis using the general linear model, best fit at the covariate value of 13.18 months). The dashed line indicates MIF level in controls. There was no significant interaction between the clinical profile (B, High PVR and High PBF, respectively, high pulmonary vascular resistance and high pulmonary blood flow) and the presence or absence of Down syndrome (C). Therefore, these factors were analyzed separately.

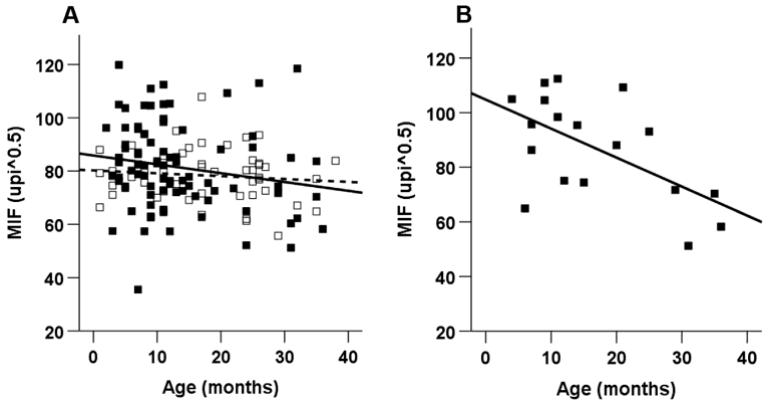


Fig. 3. Serum macrophage migration inhibitory factor (MIF) level as a function of age in pediatric controls (dashed line and open squares) and patients (solid lines and solid squares). MIF levels were analyzed after Box-Cox transformation and expressed as upi^0.5. In A, the entire study population is shown (n = 137, linear regression equation y = 84.193–0.262 * x, p = 0.045). In B, only high pulmonary vascular resistance subjects are presented (High PVR group, n = 18). The best model fit was obtained by including *pulmonary vasoreactivity* as a covariate in the model, in addition to *age*. The final linear regression model was y = 102.282–1.149 * x1 + 17.517 * x2, p = 0.006), with x1 and x2 representing patient age and the percentage decrease in pulmonary vascular resistance during nitric oxide inhalation (cardiac catheterization), respectively.

vasoconstriction in response to hypoxia and potentiating constriction pre-evoked by agonists through the PKC, p38, and ERK 1/2 signaling pathways (isolated pulmonary artery rings) [31]. Thus, early elevation of pulmonary vascular resistance, hypertrophy of small pulmonary arteries that seem to be sensitive to nitric oxide, and increased circulating levels of MIF apparently characterize an interesting and intriguing phenotype in young patients with cardiac septal defects, with potential implications in terms of management and outcomes. The sensitivity of pulmonary arteries to exogenous nitric oxide does not necessarily indicate that endogenous production of nitric oxide is defective. Rather, this suggests that signaling pathways downstream of nitric oxide synthase are not limiting steps in the production of cyclic GMP and the activation of related vasodilator molecules. Furthermore, the availability of L-arginine, the precursor for the synthesis of nitric oxide, is probably preserved in patients with hypertrophic pulmonary arteries [20]. L-arginine also plays a key role in macrophage activation [32], and monocyte-macrophages, like T cells, are important sources of MIF protein [33]. Therefore, we speculate that innate immunity, of which MIF is a pivotal regulator [34], is involved in specific structural and functional pulmonary vascular abnormalities that occur in these young patients.

A novel and interesting observation in this study was the relation of postoperative pulmonary arterial pressure to preoperative serum MIF in Down syndrome subjects. Recently, we reported that the normalization of pulmonary hemodynamics after the repair of cardiac communications could be achieved even in patients with hypertrophic pulmonary arteries, particularly those who responded well to pulmonary vasodilators [35]. However, we did not investigate any biochemical or immune response markers for a possible correlation with outcome. The results of the present study suggest that MIF may be an important element in this scenario. Although we observed a suboptimal relationship between sensitivity and specificity while analyzing receiver operating characteristic curves, a low preoperative MIF (lower quartile) was a highly specific predictor of postoperative hemodynamic normalization in Down syndrome patients. On the other hand, there were patients with high preoperative serum MIF, with exceedingly high

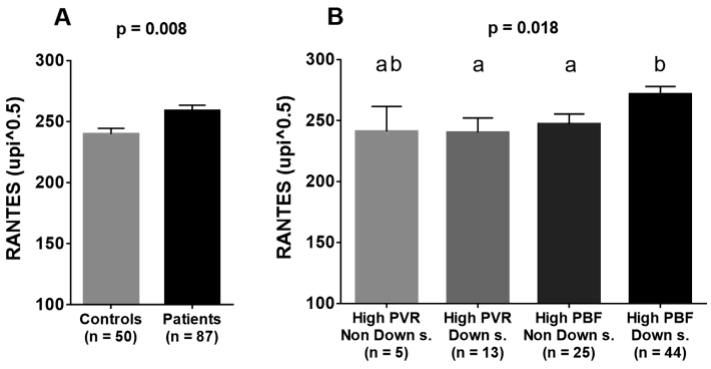


Fig. 4. Serum regulated on activation normal T cell expressed and secreted chemokine (RANTES) levels in pediatric controls and patients (A) and patient subgroups (B). RANTES levels were analyzed after Box-Cox transformation and expressed as upi^0.5. Data are presented as means with SE (A, analysis using the "t" test) or adjusted means with SE (B, data analyzed by adjusting a general linear model, best fit at a pulmonary-to-systemic blood flow ratio of 2.54). The dashed line indicates the RANTES level in controls. There was a significant interaction between the clinical profile (High PVR and High PBF, respectively, high pulmonary vascular resistance and high pulmonary blood flow) and the presence or absence of Down syndrome. Thus, subgroup analysis was carried out as shown in B. Subgroups not sharing the same letter were statistically different (*post hoc* analysis).

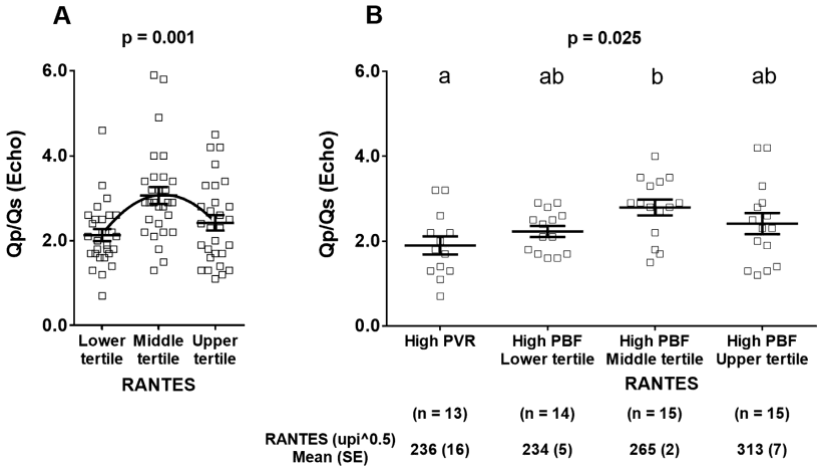


Fig. 5. In A, the relation of serum regulated on activation normal T cell expressed and secreted chemokine (RANTES) to pulmonary blood flow pattern determined noninvasively by transthoracic echocardiography (pulmonary-to-systemic blood flow ratio, Qp/Qs) in 87 patients. Mean values with SE are shown. A nonlinear regression model was adjusted to the data. The line corresponds to second-order polynomial (quadratic) fit: y = 3.301 * x–0.789 * x^2 (p = 0.001). In B, only patients with Down syndrome are presented (n = 57). RANTES levels in the groups are shown on the botton. Groups not sharing the same letter were statistically different (analysis of variance, p = 0.025, with *post hoc* tests).

Table 3
Potential predictors of pulmonary arterial systolic pressure 6 months after cardiac operation in 71 patients.

Variables	Univariate analysis p value	Multivariate analysis p value
Age at operation	0.567	–
Sex	0.662	–
Type of cardiac communications*	0.292	–
Down syndrome	0.006	0.018
Clinical presentation†	0.078	–
Baseline oxygen saturation	0.042	–
Pulmonary-to-systemic blood flow ratio	0.148	–
Baseline serum MIF	0.014	0.046
Baseline serum RANTES	0.892	–

Variables were tested by simple and multiple regression analysis with correction for heterokedasticity. Multivariate analysis was performed using the stepwise procedure for variable inclusion in the model, with a probability of 0.05 and 0.10 for variable entry and removal, respectively. Pulmonary arterial systolic pressure (dependent variable) was assessed by transthoracic echocardiography. The final regression model was pulmonary pressure (Box-Cox transformed) = −0.205 + 0.016 * Down s. (0 or 1) + 2.350E−6 * MIF, p = 0.003.

* Atrioventricular canal versus other post-tricuspid defects.

† High PVR versus High PBF profile.

pulmonary pressure after surgery. For decades, Down syndrome has been considered an independent risk factor for persistent pulmonary hypertension after the repair of congenital cardiac septal defects. Our findings reinforce the need for characterizing subpopulations of Down syndrome patients in terms of the potential for pulmonary arterial "deremodeling" following the treatment of cardiac lesions. The identification of a great number of biomarkers is probably required for this purpose.

Another interesting observation in the study was the relation of chemokine RANTES to pulmonary blood flow and Down syndrome. Increased pulmonary flow and the presence of Down syndrome, in combination, correlated better with heightened serum RANTES than any of these factors separately. In human pulmonary vascular disease, RANTES was shown to derive mainly from endothelial cells of small muscular arteries, with a lesser contribution arising from perivascular inflammatory cells. Vessels characterized by the presence of RANTES protein were associated with CD45+ cell infiltrates. The chemokine RANTES was also exuberant in vascular lesions characterized by intense endothelial cell proliferative activity, such as plexiform lesions [9]. In pediatric pulmonary hypertension associated with congenital cardiac shunts, cytokine production in respiratory epithelial cells and their neighboring microenvironment may be relevant, especially considering that the proximity of the vasculature to the epithelium in terminal airways might facilitate crosstalk with a potential impact on vascular function. Children with cardiac shunts with pulmonary congestion are susceptible to respiratory infections. Continuous exposure to viral agents may be associated with cytokine production by epithelial and inflammatory cells. This might partly explain the heightened levels of RANTES that we observed in subjects with Down syndrome and pulmonary overcirculation. RANTES and other cytokines, such as interleukins 6 and 8, were shown to be induced in airway epithelial cells infected with a number of respiratory viruses, including influenza virus, adenovirus, rhinovirus and respiratory syncytial virus [36–39]. Interestingly, RANTES was shown to induce airway smooth muscle cell migration [40], analogous to the vascular smooth muscle cells migration that occurs in arterial remodeling, thus potentially contributing to the pathogenesis of asthma.

The nonlinear relationship between RANTES and pulmonary blood flow seen in this study suggests that different pathophysiological mechanisms may underlie similar hemodynamic situations. Fig. 5A shows patients who, on average, had comparable (relatively reduced) pulmonary blood flow but considerably different circulating levels of RANTES (lower vs. upper tertile). In patients with unrestrictive cardiac communications, the increase in pulmonary flow may be limited by concomitant abnormalities such as pulmonary arterial remodeling, which is quite heterogeneous; vasoconstriction; intrapulmonary veno-

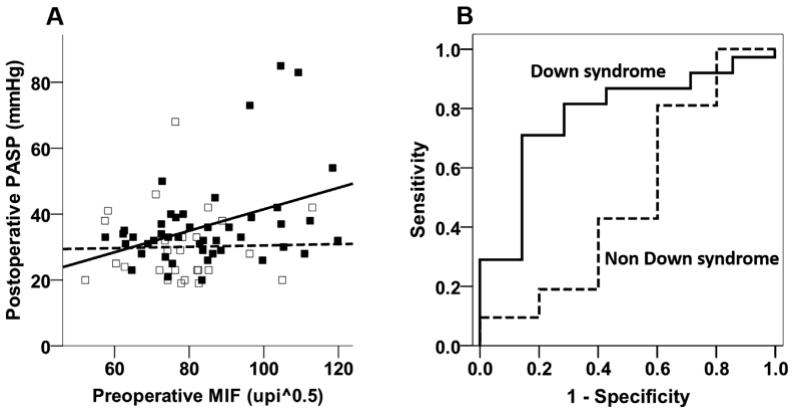


Fig. 6. Relation of postoperative pulmonary artery systolic pressure (PASP, transthoracic echocardiography 6 months after cardiac surgery) to the presence/absence of Down syndrome and preoperative serum macrophage migration inhibitory factor (MIF) in 71 patients. MIF levels were analyzed after Box-Cox transformation and expressed as upi^0.5. In A, the solid line with solid squares and dashed line with open squares represent subjects with and without Down syndrome, respectively. The linear regression equation for the Down syndrome group was $y = 8.859 + 0.326 * x$, $p = 0.009$. In B, receiver operating characteristic curves showing how low levels of MIF at entry predicted PASP normalization (≤ 40 mmHg) postoperatively. The area under the curve for Down syndrome and non-Down syndrome subjects was 0.78 (95% CI 0.60–0.96, $p = 0.020$) and 0.51 (95% CI 0.18–0.83, $p = 0.974$), respectively. All Down syndrome patients in the lower quartile of MIF had normal PASP 6 months after surgery.

occlusive lesions; altered left atrial and/or left ventricular compliance; and increased left atrial pressure due to left atrioventricular valve dysfunction. Depending on the type of associated pathology, resistance to flow may or may not cause pulmonary congestion in subjects with pulmonary overcirculation. Based on our findings, we speculate that the serum RANTES level reflects not only pulmonary blood flow itself but also the specific pathophysiological conditions that determine its dynamics.

In the pathobiology of pulmonary vascular disease, RANTES seems to be involved in the inhibition of endothelial cell apoptosis and phenotypic modulation and proliferation of vascular smooth muscle cells. Its role in the phenotypic modulation of smooth muscle cells was shown in experimental occlusive pulmonary vascular disease induced by combined exposure to Sugen 5416, a vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, and hypobaric hypoxia. Gene expression of RANTES and other mediators of inflammation was persistently or progressively upregulated in the lungs of experimental animals [11]. In cell culture experiments, RANTES deficiency was associated with increased apoptosis of pulmonary arterial endothelial cells and suppressed proliferation and migration of smooth muscle cells via caveolin-1-dependent BMPR2 receptor activation. In parallel experiments in mice, the deletion of RANTES attenuated the development of Sugen 5416/hypoxia-induced pulmonary hypertension by restoring BMPR2 signaling [41].

5. Conclusion

This study demonstrates that circulating levels of MIF and chemokine RANTES are altered in young pediatric patients with unrestrictive congenital cardiac communications and signs of pulmonary hypertension. Both proteins seem to be upregulated in patients but not controls with Down syndrome. There seems to be a phenotype with early presentation (first year of life) characterized by a dynamic elevation of pulmonary vascular resistance associated with heightened circulating levels of MIF. Down syndrome patients with this phenotype are at risk of persistent elevation of pulmonary arterial pressure after the repair of cardiac anomalies, while those with low preoperative serum MIF are very likely to reach hemodynamic normalization. RANTES, a chemokine that is highly expressed in the course of respiratory viral infections, is increased in a pulmonary-flow-dependent manner in these patients. The proximity of distal airways to the pulmonary microvasculature leads to the speculation that chronic exposure to infectious agents and the subsequent expression of proteins known to be involved in vascular remodeling might be associated with the development of pulmonary vascular abnormalities in children with congenital cardiac shunts. This possibility might be of interest in terms of prevention and development of targeted therapies.

CRediT authorship contribution statement

Maria Francilene S. Souza: Conceptualization, Methodology, Investigation, Data curation, Writing – original draft. **Nair Y. Maeda:** Conceptualization, Methodology, Investigation, Data curation, Writing – review & editing. **Eloisa S. Carvalho:** Conceptualization, Methodology, Data curation, Writing – review & editing. **Ana M. Thomaz:** Methodology, Data curation, Writing – review & editing. **Leína Zorzanelli:** Methodology, Data curation, Writing – review & editing. **Claudia R. Castro:** Methodology, Data curation, Writing – review & editing. **Juliana Pereira:** Conceptualization, Methodology, Investigation, Supervision, Writing – review & editing. **Antonio Augusto Lopes:** Conceptualization, Funding acquisition, Methodology, Investigation, Project administration, Formal analysis, Writing – review & editing.

Funding

This work was supported by FAPESP – Foundation for Research Support of the State of São Paulo [grant # 2015/21587-5].

Data availability statement

The data used to support the conclusions of the present study correspond to the project FAPESP #2015/21587-5, and are available from the corresponding author upon request.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

References

[1] M.G. Frid, B.A. McKeon, J.M. Thurman, B.A. Maron, M. Li, H. Zhang, S. Kumar, T. Sullivan, J. Laskowsky, M.A. Fini, S. Hu, R.M. Tuder, A. Gandjeva, M.R. Wilkins, C.J. Rhodes, P. Ghataorhe, J.A. Leopold, R.S. Wang, V.M. Holers, K.R. Stenmark, Immunoglobulin-driven complement activation regulates proinflammatory remodeling in pulmonary hypertension, Am. J. Respir. Crit. Care Med. 201 (2020) 224–239, https://doi.org/10.1164/rccm.201903-0591OC.

[2] H. El Chami, P.M. Hassoun, Immune and inflammatory mechanisms in pulmonary arterial hypertension, Prog. Cardiovasc. Dis. 55 (2012) 218–228, https://doi.org/10.1016/j.pcad.2012.07.006.

[3] S. Fleck, G. Bautista, S.M. Keating, T.H. Lee, R.L. Keller, A.J. Moon-Grady, K. Gonzales, P.J. Norris, M.P. Busch, C.J. Kim, R. Romero, H. Lee, D. Miniati, T.C. MacKenzie, Fetal production of growth factors and inflammatory mediators predicts pulmonary hypertension in congenital diaphragmatic hernia, Pediatr. Res. 74 (2013) 290–298, https://doi.org/10.1038/pr.2013.98.

[4] M. Aggarwal, R.M. Grady, Glucocorticoids for treating paediatric pulmonary hypertension: a novel use for a common medication, Cardiol. Young 27 (2017) 1410–1412, https://doi.org/10.1017/S1047951117000464.

[5] J. Costa, Y. Zhu, T. Cox, P. Fawcett, T. Shaffer, D. Alapati, Inflammatory response of pulmonary artery smooth muscle cells exposed to oxidative and biophysical stress, Inflammation 41 (2018) 1250–1258, https://doi.org/10.1007/s10753-018-0772-0.

[6] M. Duncan, B.D. Wagner, K. Murray, J. Allen, K. Colvin, F.J. Accurso, D.D. Ivy, Circulating cytokines and growth factors in pediatric pulmonary hypertension, Mediators Inflamm. 2012 (2012) 143428, https://doi.org/10.1155/2012/143428.

[7] R.F. Pinto, L. Higuchi Mde, V.D. Aiello, Decreased numbers of T-lymphocytes and predominance of recently recruited macrophages in the walls of peripheral pulmonary arteries from 26 patients with pulmonary hypertension secondary to congenital cardiac shunts, Cardiovasc. Pathol. 13 (2004) 268–275, https://doi.org/10.1016/j.carpath.2004.06.003.

[8] K. Sungprem, A. Khongphatthanayothin, P. Kiettisanpipop, P. Chotivitayatarakorn, Y. Poovorawan, P. Lertsapcharoen, Serum level of soluble intercellular adhesion molecule-1 correlates with pulmonary arterial pressure in children with congenital heart disease, Pediatr. Cardiol. 30 (2009) 472–476, https://doi.org/10.1007/s00246-008-9374-1.

[9] P. Dorfmüller, V. Zarka, I. Durand-Gasselin, G. Monti, K. Balabanian, G. Garcia, F. Capron, A. Coulomb-Lherminé, A. Marfaing-Koka, G. Simonneau, D. Emilie, M. Humbert, Chemokine RANTES in severe pulmonary arterial hypertension, Am. J. Respir. Crit. Care Med. 165 (4) (2002) 534–539, https://doi.org/10.1164/ajrccm.165.4.2012112.

[10] M. Nakano, T. Fujii, M. Hashimoto, N. Yukawa, H. Yoshifuji, K. Ohmura, A. Nakaizumi, T. Mimori, Type I interferon induces CX3CL1 (fractalkine) and CCL5 (RANTES) production in human pulmonary vascular endothelial cells, Clin. Exp. Immunol. 170 (1) (2012) 94–100, https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2012.04638.x.

[11] S. Otsuki, H. Sawada, N. Yodoya, T. Shinohara, T. Kato, H. Ohashi, E. Zhang, K. Imanaka-Yoshida, H. Shimpo, K. Maruyama, Y. Komada, Y. Mitani, Potential contribution of phenotypically modulated smooth muscle cells and related inflammation in the development of experimental obstructive pulmonary vasculopathy in rats, PLoS ONE 10 (2) (2015) e0118655, https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118655.

[12] G. Jalce, C. Guignabert, Multiple roles of macrophage migration inhibitory factor in pulmonary hypertension, Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 318 (1) (2020) L1–L9, https://doi.org/10.1152/ajplung.00234.2019.

[13] B. Zhang, M. Shen, M. Xu, L.L. Liu, Y. Luo, D.Q. Xu, Y.X. Wang, M.L. Liu, Y. Liu, H.Y. Dong, P.T. Zhao, Z.C. Li, Role of macrophage migration inhibitory factor in the proliferation of smooth muscle cell in pulmonary hypertension, Mediators Inflamm. 2012 (2012) 840737, https://doi.org/10.1155/2012/840737.

[14] L. Tu, A. Huertas, M. Le Hiress, et al., MIF/C74-dependent interleukin-6 and monocyte chemoattractant protein-1 secretion by pulmonary endothelial cells in idiopathic pumonary hypertension, Am. J. Respir. Crit. Care Med. 187 (2013) A1739.

[15] M. Le Hiress, L. Tu, N. Ricard, C. Phan, R. Thuillet, E. Fadel, P. Dorfmüller, D. Montani, F. de Man, M. Humbert, A. Huertas, C. Guignabert, Proinflammatory signature of the dysfunctional endothelium in pulmonary hypertension. role of the macrophage migration inhibitory factor/CD74 complex, Am. J. Respir. Crit. Care Med. 192 (8) (2015) 983–997, https://doi.org/10.1164/rccm.201402-0322OC.

[16] A.D. Luster, Chemokines–chemotactic cytokines that mediate inflammation, N. Engl. J. Med. 338 (7) (1998) 436–445, https://doi.org/10.1056/NEJM199802123380706.

[17] T.J. Schall, K. Bacon, K.J. Toy, D.V. Goeddel, Selective attraction of monocytes and T lymphocytes of the memory phenotype by cytokine RANTES, Nature 347 (6294) (1990) 669–671, https://doi.org/10.1038/347669a0.

[18] C.S. Lin, P.S. Hsieh, L.L. Hwang, Y.H. Lee, S.H. Tsai, Y.C. Tu, Y.W. Hung, C.C. Liu, Y.P. Chuang, M.T. Liao, S. Chien, M.C. Tsai, The CCL5/CCR5 axis promotes vascular smooth muscle cell proliferation and atherogenic phenotype switching, Cell. Physiol. Biochem. 47 (2) (2018) 707–720, https://doi.org/10.1159/000490024.

[19] L. Zorzanelli, N. Maeda, M. Clavé, A. Thomaz, F. Galas, M. Rabinovitch, A. Lopes, Relation of cytokine profile to clinical and hemodynamic features in young patients with congenital heart disease and pulmonary hypertension, Am. J. Cardiol. 119 (1) (2017) 119–125, https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2016.09.020.

[20] N.Y. Maeda, V.D. Aiello, P.C. Santos, A.M. Thomaz, L.J. Kajita, S.P. Bydlowski, A.A. Lopes, Relation of macrophage migration inhibitory factor to pulmonary hemodynamics and vascular structure and carbamyl-phosphate synthetase i genetic variations in pediatric patients with congenital cardiac shunts, Mediators Inflamm. 2019 (2019) 7305028, https://doi.org/10.1155/2019/7305028.

[21] H. Brun, H. Holmstrøm, E. Thaulow, J.K. Damås, A. Yndestad, P. Aukrust, T. Ueland, Patients with pulmonary hypertension related to congenital systemic-to-pulmonary shunts are characterized by inflammation involving endothelial cell activation and platelet-mediated inflammation, Congenit Heart Dis. 4 (3) (2009) 153–159, https://doi.org/10.1111/j.1747-0803.2009.00297.x.

[22] D. Huggard, L. Kelly, E. Ryan, F. McGrane, N. Lagan, E. Roche, J. Balfe, T.R. Leahy, O. Franklin, D.G. Doherty, E.J. Molloy, Increased systemic inflammation in children with Down syndrome, Cytokine 127 (2020) 154938, https://doi.org/10.1016/j.cyto.2019.154938.

[23] S.H. Abman, G. Hansmann, S.L. Archer, D.D. Ivy, I. Adatia, W.K. Chung, B.D. Hanna, E.B. Rosenzweig, J.U. Raj, D. Cornfield, K.R. Stenmark, R. Steinhorn, B. Thébaud, J.R. Fineman, T. Kuehne, J.A. Feinstein, M.K. Friedberg, M. Earing, R.J. Barst, R.L. Keller, J.P. Kinsella, M. Mullen, R. Deterding, T. Kulik, G. Mallory, T. Humpl, D.L. Wessel, American Heart Association Council on Cardiopulmonary, Critical Care, Perioperative and Resuscitation, Council on Clinical Cardiology, Council on Cardiovascular Disease in the Young, Council on Cardiovascular Radiology and Intervention, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, American Thoracic Society, Pediatric pulmonary hypertension: guidelines from the American Heart Association and American Thoracic Society, Circulation 132 (21) (2015) 2037–2099, https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000329 Erratum in: Circulation. 2016;133(4):e368.

[24] A.A. Lopes, R.J. Barst, S.G. Haworth, M. Rabinovitch, M. Al Dabbagh, M.J. Del Cerro, D. Ivy, T. Kashour, K. Kumar, S. Harikrishnan, M. D'Alto, A.M. Thomaz, L. Zorzanelli, V.D. Aiello, A.O. Mocumbi, M.V. Santana, A.N. Galal, H. Banjar, O. Tamimi, A. Heath, P.C. Flores, G. Diaz, J. Sandoval, S. Kothari, S. Moledina, R.C. Gonçalves, A.C. Barreto, M.A. Binotto, M. Maia, F. Al Habshan, I. Adatia, Repair of congenital heart disease with associated pulmonary hypertension in children: what are the minimal investigative procedures? Consensus statement from the Congenital Heart Disease and Pediatric Task Forces, Pulmonary Vascular Research Institute (PVRI), Pulm Circ. 4 (2) (2014) 330–341, https://doi.org/10.1086/675995. Erratum. In: Pulm Circ. 2014;4(3):531.

[25] T.H. Laird, S.A. Stayer, S.M. Rivenes, M.B. Lewin, E.D. McKenzie, C.D. Fraser, D.B. Andropoulos, Pulmonary-to-systemic blood flow ratio effects of sevoflurane, isoflurane, halothane, and fentanyl/midazolam with 100% oxygen in children with congenital heart disease, Anesth. Analg. 95 (5) (2002) 1200–1206, https://doi.org/10.1097/00000539-200211000-00016.

[26] J.X. Liu, J.H. Wang, S.R. Yang, M. Liu, Y. Xu, J.H. Sun, C.Y. Yan, Clinical utility of the ventricular septal defect diameter to aorta root diameter ratio to predict early childhood developmental defects or lung infections in patients with perimembranous ventricular septal defect, J Thorac Dis. 5 (5) (2013) 600–604, https://doi.org/10.3978/j.issn.2072-1439.2013.09.05.

[27] J.L. Wilkinson, Haemodynamic calculations in the catheter laboratory, Heart 85 (1) (2001) 113–120, https://doi.org/10.1136/heart.85.1.113.

[28] T. Kiss, K. Kovacs, A. Komocsi, A. Tornyos, P. Zalan, B. Sumegi, F. Gallyas Jr, K. Kovacs, Novel mechanisms of sildenafil in pulmonary hypertension involving cytokines/chemokines, MAP kinases and Akt, PLoS ONE 9 (8) (2014) e104890, https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104890.

[29] N. Galiè, M. Humbert, J.L. Vachiery, S. Gibbs, I. Lang, A. Torbicki, G. Simonneau, A. Peacock, A. Vonk Noordegraaf, M. Beghetti, A. Ghofrani, M.A. Gomez Sanchez, G. Hansmann, W. Klepetko, P. Lancellotti, M. Matucci, T. McDonagh, L.A. Pierard, P.T. Trindade, M. Zompatori, M. Hoeper, ESC Scientific Document Group, 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: the joint task force for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT), Eur Heart J. 37 (1) (2016) 67–119, https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv317.

[30] E.B. Rosenzweig, S.H. Abman, I. Adatia, M. Beghetti, D. Bonnet, S. Haworth, D.D. Ivy, R.M.F. Berger, Paediatric pulmonary arterial hypertension: updates on definition, classification, diagnostics and management, Eur. Respir. J. 53 (1) (2019) 1801916, https://doi.org/10.1183/13993003.01916-2018.

[31] B. Zhang, Y. Luo, M.L. Liu, J. Wang, D.Q. Xu, M.Q. Dong, Y. Liu, M. Xu, H.Y. Dong, P.T. Zhao, Y.Q. Gao, Z.C. Li, Macrophage migration inhibitory factor contributes to hypoxic pulmonary vasoconstriction in rats, Microvasc. Res. 83 (2) (2012) 205–212, https://doi.org/10.1016/j.mvr.2011.09.014.

[32] M. Pekarova, A. Lojek, The crucial role of L-arginine in macrophage activation: what you need to know about it, Life Sci. 137 (2015) 44–48, https://doi.org/10.1016/j.lfs.2015.07.012.

[33] N.C. Riedemann, R.F. Guo, P.A. Ward, Novel strategies for the treatment of sepsis, Nat. Med. 9 (5) (2003) 517–524, https://doi.org/10.1038/nm0503-517.

[34] T. Calandra, T. Roger, Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity, Nat. Rev. Immunol. 3 (10) (2003) 791–800, https://doi.org/10.1038/nri1200.

[35] A.M. Thomaz, L.J. Kajita, V.D. Aiello, L. Zorzanelli, F.R.B.G. Galas, C.G. Machado, M. Barbero-Marcial, M.B. Jatene, M. Rabinovitch, A.A. Lopes, Parameters associated with outcome in pediatric patients with congenital heart disease and pulmonary hypertension subjected to combined vasodilator and surgical treatments,

Pulm Circ. 9 (3) (2019) 1–13, https://doi.org/10.1177/2045894019837885.
[36] J.S. Yoon, H.H. Kim, Y. Lee, J.S. Lee, Cytokine induction by respiratory syncytial virus and adenovirus in bronchial epithelial cells, Pediatr. Pulmonol. 42 (3) (2007) 277–282, https://doi.org/10.1002/ppul.20574.
[37] Y.H. Chun, J.Y. Park, H. Lee, H.S. Kim, S. Won, H.J. Joe, W.J. Chung, J.S. Yoon, H.H. Kim, J.T. Kim, J.S. Lee, Rhinovirus-infected epithelial cells produce more IL-8 and RANTES compared with other respiratory viruses, Allergy Asthma Immunol. Res. 5 (4) (2013) 216–223, https://doi.org/10.4168/aair.2013.5.4.216.
[38] R. Levitz, R. Wattier, P. Phillips, A. Solomon, J. Lawler, I. Lazar, C. Weibel, J.S. Kahn, Induction of IL-6 and CCL5 (RANTES) in human respiratory epithelial (A549) cells by clinical isolates of respiratory syncytial virus is strain specific, Virol J. 9 (2012) 190, https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-190.
[39] S. Shariff, C. Shelfoon, N.S. Holden, S.L. Traves, S. Wiehler, C. Kooi, D. Proud, R. Leigh, Human rhinovirus infection of epithelial cells modulates airway smooth muscle migration, Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 56 (6) (2017) 796–803, https://doi.org/10.1165/rcmb.2016-0252OC.
[40] X. Nie, J. Tan, Y. Dai, Y. Liu, J. Zou, J. Sun, S. Ye, C. Shen, L. Fan, J. Chen, J.S. Bian, CCL5 deficiency rescues pulmonary vascular dysfunction, and reverses pulmonary hypertension via caveolin-1-dependent BMPR2 activation, J. Mol. Cell. Cardiol. 116 (2018) 41–56, https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2018.01.016.
[41] S. Matsukura, F. Kokubu, H. Kubo, T. Tomita, H. Tokunaga, M. Kadokura, T. Yamamoto, Y. Kuroiwa, T. Ohno, H. Suzaki, M. Adachi, Expression of RANTES by normal airway epithelial cells after influenza virus A infection, Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 18 (2) (1998) 255–264, https://doi.org/10.1165/ajrcmb.18.2.2822.