UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

LIVIA ARCÊNCIO

Estudo do nitrito/nitrato no condensado do exalado pulmonar e no plasma de pacientes valvopatas e coronariopatas submetidos à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea

RIBEIRÃO PRETO
2012

LIVIA ARCÊNCIO

Estudo do nitrito/nitrato no condensado do exalado pulmonar e no plasma de pacientes valvopatas e coronariopatas submetidos à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea

Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo, para obtenção do
título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Alfredo José Rodrigues
Área de concentração: Clínica Cirúrgica

RIBEIRÃO PRETO

2012

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Arcêncio, Livia. Estudo do nitrito/nitrato no condensado do exalado pulmonar e no plasma de pacientes valvopatas e coronariopatas submetidos à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea. Ribeirão Preto, 2012. 90 p. : il. ; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Cirurgia. Orientador: Rodrigues, Alfredo José.

1. Óxido Nítrico. 2. Condensado do Exalado Pulmonar. 3. Cirurgia Cardíaca

FOLHA DE APROVAÇÃO

Livia Arcêncio

Estudo do nitrito/nitrato no condensado do exalado pulmonar e no plasma de pacientes valvopatas e coronariopatas submetidos à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do **Título de Mestre**. Área de concentração: Clínica Cirúrgica

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

*Dedico este trabalho, que faz parte da realização
de um sonho, aos meus pais Cida (in memoriam) e Jorge.
Obrigada por todo o amor dedicado a mim.*

AGRADECIMENTOS

*A **Deus** por me guiar nesta jornada.*

*Aos **meus pais e familiares**, pois com sabedoria e muito amor vocês ajudaram a me conduzir esta grande realização.*

*Ao **Professor Dr. Alfredo José Rodrigues**, orientador deste estudo, professor dedicado que com disponibilidade e sabedoria soube conduzir-me ao meu aprimoramento pessoal e profissional. Agradeço a confiança depositada em mim para a execução deste trabalho.*

*A grande amiga, madrinha e colega de pesquisa **Daniella Alves Vento** que caminhou lado a lado comigo nesta jornada sempre com muita serenidade e determinação.*

*Ao meu marido e grande amigo **Rafael Bonatto do Amaral** pela paciência e apoio em todas as minhas realizações desde o início deste trabalho.*

*A **Tia Rita e Dora**, pelo amor maternal dedicado a mim todos estes anos.*

*As minhas irmãs **Mayara e Natália**, minha prima **Daniele** e amiga **Priscila**, pela doçura nas palavras de incentivo todos os dias desta jornada.*

*A minha amiga e madrinha **Heloyse** pelos valiosos conselhos profissionais e amizade incondicional.*

*Ao amigo e padrinho **Rafael** pela amizade e companhia desde os tempos da faculdade.*

*A todos os **funcionários do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto – FMRP/USP**, em especial aos da **Unidade de Pós Operatório da Recuperação do Tórax** pela cordialidade e coleguismo empregadas no andamento da realização deste estudo.*

Ao Prof. Paulo Roberto Barbosa Évora por participar de discussões pertinentes a este trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Cirurgia e Anatomia pela prontidão e presteza no encaminhamento desta pesquisa.

As funcionárias do Laboratório de Bioquímica, Maria Elisa, Maria Aparecida, Cecília e Clarice pela colaboração e realização das análises do material resultante das coletas deste estudo.

As funcionárias da Central de Material do HC-FMRP-USP Alexandra, Vanessa, Elaine, Eliana, Viviane e aos demais, pelo apoio na limpeza do material utilizado nesta pesquisa, parte primordial para o bom decorrer desta pesquisa.

A todos os pacientes do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto – FMRP/USP pela disponibilidade e dedicação na participação deste estudo em um momento tão delicado e importante de suas vidas.

Ao Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo por colocar à disposição a área para realização e desenvolvimento desta e de outras pesquisas.

A FAEPA e a FAPESP pelo apoio financeiro.

*“Se as coisas são inatingíveis... ora!
Não é motivo para não querê-las...
Que tristes os caminhos, se não fora
A presença distante das estrelas!”*

Mário Quintana

Arcêncio, Livia. Estudo do nitrito/nitrato no condensado do exalado pulmonar e no plasma de pacientes valvopatas e coronariopatas submetidos à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea. Ribeirão Preto, 2012. 90 p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto – São Paulo, 2012.

RESUMO

Pacientes submetidos à cirurgia cardiotorácica com circulação extracorpórea (CEC) apresentam reações inflamatórias, desencadeadas por este procedimento e pela isquemia-reperusão, que acarretam disfunção pulmonar e lesão do endotélio vascular no pós-operatório. Estes processos relativos à cirurgia cardíaca podem afetar a produção e o consumo do óxido nítrico (NO) no pulmão e no endotélio vascular, principalmente na sua participação no processo inflamatório. No pulmão, o NO se difunde com facilidade sendo detectado na via aérea na fase gasosa ou no fluido pulmonar como nitrito e o nitrato. A presença do NO na via aérea pode em algumas situações refletir a sua produção pelo epitélio da via aérea e pelo endotélio microvascular pulmonar. No entanto, os processos que envolvem a produção e o consumo do NO na via aérea ainda não estão totalmente esclarecidos. O condensado do exalado pulmonar (CEP) é um fluido obtido através do resfriamento do ar exalado através de um método totalmente não invasivo e que pode ser utilizado para a investigação do NO nas vias aéreas distais. No desenvolvimento deste estudo foi utilizado um aparato de coleta artesanal e de baixo custo para obtenção do CEP. Assim, foi coletado o CEP de pacientes coronariopatas e valvopatas submetidos à cirurgia cardíaca com CEC nos períodos pré-operatório e pós-operatório (4 horas após a CEC e 12, 24, 48 e 72 horas após a extubação). As concentrações plasmáticas de nitrito/nitrato destes pacientes também foram avaliadas através de amostras de sangue colhidas imediatamente após cada coleta do CEP. O CEP e o plasma foram analisados pela técnica de quimioluminescência para obter as concentrações de nitrito/nitrato. O aparato utilizado obteve utilização reprodutível na rotina clínica da cirurgia cardíaca nesta pesquisa em pacientes sob ventilação espontânea e ventilação mecânica. Não foram encontradas diferenças significativas ($p > 0,05$) nas concentrações de nitrito/nitrato no CEP e plasma entre os pacientes coronariopatas e valvopatas no período pré-operatório. Concentrações significativamente maiores de nitrito/nitrato ($p = 0,017$) foram encontradas no CEP, mas não no plasma, de pacientes que utilizaram nitrato por via oral (dinitrato de isossorbida) no período pré-operatório. Em pacientes que não utilizaram medicação contendo

doador de NO (nitroglicerina ou nitroprussiato de sódio) por via endovenosa no pós-operatório ocorreu uma tendência à elevação das concentrações de nitrito/nitrato no CEP que foi numericamente significativa no período de 48 horas do pós-operatório ($p=0,008$). Em pacientes que receberam ou não doador de NO no pós-operatório as concentrações de nitrito/nitrato foram significativamente maiores nos períodos de 48 horas ($p=0,005$) e 72 horas ($p=0,037$) do pós-operatório. A utilização de nitroglicerina (NTG) no período pós-operatório elevou significativamente as concentrações de nitrito/nitrato no CEP nos períodos de 12 horas ($p=0,022$), 48 horas ($p=0,015$) e 72 horas ($p=0,048$) e no plasma nos períodos de 12 horas ($p=0,045$). As concentrações de nitrito/nitrato plasmáticos foram significativamente reduzidas ($p=0,045$) no pós-operatório imediato 4 horas após a CEC em pacientes que receberam ou não doador de NO. A partir destes resultados pode se observar que não houve diferenças significativas nas concentrações de nitrito/nitrato no CEP dos pacientes coronariopatas e valvopatas no período pré-operatório, exceto elevação significativa encontrada em pacientes que utilizaram dinitrato de isossorbida por via oral. As concentrações de nitrito/nitrato no CEP tendem a elevar-se no período pós-operatório principalmente com a utilização de NTG. As concentrações de nitrito/nitrato no plasma foram significativamente reduzidas após 4 horas da CEC no pós-operatório imediato. No entanto foi observado elevação nas concentrações de nitrito/nitrato no plasma de pacientes que usaram NTG. Os achados deste estudo poderão contribuir em futuras pesquisas fornecendo dados comparativos a respeito da participação do NO na via aérea e no plasma nos processos que envolvem a cirurgia cardíaca nos períodos pré e pós-operatório.

Palavras chave: Óxido nítrico; Condensado do Exalado Pulmonar; Cirurgia Cardíaca.

Arcêncio, Livia. Study of nitrite/nitrate in exhaled breath condensate and plasma of patients with heart valve disease and coronary artery disease undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. Ribeirão Preto, 2012. 90 p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto – São Paulo, 2012.

ABSTRACT

Patients undergoing cardiothoracic surgery with cardiopulmonary bypass (CPB) have inflammatory reactions triggered by this procedure and by ischemia-reperfusion, which cause lung dysfunction and injury of vascular endothelium in the postoperative period. These processes related to cardiac surgery may affect the production and consumption of nitric oxide (NO) in the lung and vascular endothelium, especially in their participation in the inflammatory process. In the lung, NO diffuses easily and can be detected in the airway in the gas phase or in the lung fluid as nitrite and nitrate. The presence of NO in exhaled air may reflect the airway epithelium and lung microvascular endothelium in some situations. However, processes involving the production and consumption of NO in the airway are not totally understood. The exhaled breath condensate (EBC) is a fluid obtained by cooling exhaled air which can be used for the investigation of NO in the distal airways. For this study we used an apparatus homemade and with low cost for collecting and obtain the EBC. The EBC was collected from patients with coronary artery disease and heart valve disease undergoing cardiac surgery with CPB in the preoperative and postoperative period (4 hours after CPB and 12, 24, 48 and 72 hours after extubation). Plasma concentrations of nitrite/nitrate in these patients were also evaluated using blood samples taken immediately after each collection of the EBC. The EBC and plasma were analyzed by chemiluminescence method to obtain the concentrations of nitrite/nitrate. The apparatus used was reproducible in clinical routine of cardiac surgery in patients under spontaneous ventilation or mechanical ventilation. There were no significant differences ($p > 0.05$) in concentrations of nitrite/nitrate in EBC and plasma in patients with coronary artery disease and heart valve disease in the preoperative period. Significantly higher concentrations of nitrite/nitrate ($p=0.017$) were found in EBC, but not in plasma of patients who used oral nitrate (isosorbide dinitrate) in the preoperative period. In patients who did not use medication containing NO donor (nitroglycerin or sodium nitroprusside) intravenously in the postoperative period there was a tendency to high concentrations of nitrite/nitrate in EBC that was numerically significant in the period of 48 hours postoperative ($p=0.008$). In patients who received or not NO donor in

postoperative period the concentrations of nitrite/nitrate were significantly higher in periods of 48 hours ($p=0.005$) and 72 hours ($p=0.037$) after surgery. The use of nitroglycerin (GTN) in the postoperative period significantly elevated concentrations of nitrite/nitrate in the EBC in periods of 12 hours ($p=0.022$), 48 hours ($p=0.015$) and 72 hours ($p=0.048$) and plasma in period of 12 hours ($p=0.045$). The concentrations of nitrite/nitrate were significantly reduced ($p=0.045$) in the immediate postoperative period 4 hours after CPB in patients who received or not NO donor. From these results we could observe that there were no significant differences in concentrations of nitrite/nitrate in the EBC of patients with heart valve disease and coronary artery disease in the preoperative period, but we found a significant increase in these concentrations in patients who used isosorbide dinitrate orally. The concentrations of nitrite/nitrate in EBC presented a tendency to increase in postoperative period especially in patients who used GTN. The concentrations of nitrite/nitrate in plasma were significantly reduced after 4 hours of CPB in the immediate postoperative period. However, was observed that GTN tended to increase the concentration of nitrite/nitrate in plasma. These findings could help in future research providing comparative data about the role of NO in the airway and plasma in processes involving cardiac surgery in the pre and postoperative periods.

Key Words: Nitric Oxide; Exhaled Breath Condensate; Cardiac Surgery.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Formação do NO a partir do substrato L-arginina.....	24
Figura 2:	A – Foto R [®] Tube. B – Esquema R [®] Tube seccionado (Respiratory Research Inc, Charlottesville, VA, USA). Disponível em: http://www.rtube.com/	30
Figura 3:	A- Foto EcoScreen [®] (Jaeger, Wurzburg, Alemanha). Disponível em: viasyshealthcare.com . B- Esquema funcional do EcoScreen [®] . In: MONTUSCHI, P. Indirect monitoring of lung Inflammation. Nature, v. 1, p.238-242, 2002.....	31
Figura 4:	Condensador Anacon Biostec acoplado ao circuito de ventilação mecânica. In: ROMERO, P.V. RODRÍGUEZ, B. MARTÍNEZ, S. CAÑIZARES, R. SEPÚLVEDA, D. MANRESA, F.. Estrés oxidativo en el condensado exhalado de pacientes con infección pulmonar grave. Arch Bronconeumol, v. 42(3), p.113-9, 2006.....	31
Figura 5:	TurboDeccs conectado em série em um estudo de Corradi et al (2008). In: CORRADI, M. GOLDONI, M. CAGLIERI, A. FOLESANI, G. POLI, D. CORTI, M. ANTONIO MUTTI, A. Collecting Exhaled Breath Condensate (EBC) with Two Condensers in Series: A Promising Technique for Studying the Mechanisms of EBC Formation, and the Volatility of Selected Biomarkers. Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery, v. 21 (1), p.35-44, 2008.....	31
Figura 6:	Foto e esquema do Aparato. A Fotografia e esquema do tubo de vidro condensador em forma de “U” com a aberturas laterais para entrada e saída do fluxo de ar e coletor do CEP conectado na abertura inferior do condensador. B: Fotografia e esquema do aparato para coleta do CEP. a: bucal. b: válvula inspiratória. c: válvula expiratória. d: local de conexão do coletor de vidro.....	39
Figura 7:	Aparato para coleta em ventilação espontânea. A: bucal. B: válvula inspiratória. C: válvula exalatória. D: local de conexão do recipiente de vidro.....	40
Figura 8:	Ventilômetro conectado ao tubo em “U”	41
Figura 9:	Esquema e foto Tubo de vidro em “U” conectado entre as extensões do ventilador mecânico sem o recipiente térmico.....	42
Figura 10:	Foto de voluntário (modelo) realizando coleta do CEP.....	43
Figura 11:	Reação do NO com o ozônio.....	46
Figura 12:	Analizador de nitrito/nitrato Sievers 280i NOA (Sievers, Boulder, CO, EUA)..	46
Figura 13:	Nitrito/nitrato do CEP dos pacientes dos pacientes submetidos CR e CVI do período pré-operatório <i>versus</i> 4 hs PO, 12 hs PO, 24 hs PO, 48 hs PO e 72 hs PO	

	que não utilizaram nitrato e IECA no período pré-operatório e NTG e NPS no período pós-operatório.....	59
Figura 14:	Nitrito/nitrato no CEP de pacientes submetidos a CR e CVI que utilizaram NTG EV e NPS EV no pós-operatório <i>versus</i> pacientes submetidos a CR e CVI que não utilizaram NTG EV e NPS EV no pós-operatório.....	60
Figura 15:	Nitrito/nitrato no CEP de pacientes submetidos a CR e CVI: comparação entre a utilização EV da NTG, NPS ou nenhuma medicação EV.....	61
Figura 16:	Nitrito/nitrato do plasma dos pacientes submetidos a CR e CVI do período pré-operatório <i>versus</i> 4 hs PO, 12 hs PO, 24 hs PO, 48 hs PO e 72 hs PO.....	62
Figura 17:	Nitrito/nitrato no plasma de pacientes submetidos a CR e CVI que utilizaram NTG e NPS EV no pós-operatório <i>versus</i> Pacientes submetidos a CR e CVI que não utilizaram NTG e NPS e.v no pós-operatório.....	63
Figura 18:	Nitrito/nitrato no plasma de Pacientes submetidos a CR e CVI. Comparação entre a utilização endovenosa da NTG, NPS ou nenhuma medicação.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Características Clínicas dos 54 pacientes operados.....	50
Tabela 2:	Características operatórias dos 54 pacientes operados.....	51
Tabela 3:	Evolução clínica no pós-operatório dos 54 pacientes operados.....	52
Tabela 4:	Comparação das concentrações de nitrito/nitrato do CEP e do plasma no período pré-operatório.....	53
Tabela 5:	Análise do nitrito/nitrato do CEP e plasma conforme tipo de medicação recebida no período pré-operatório.....	53
Tabela 6:	Proporção de pacientes que receberam associações ou não de IECA e/ou nitratos no período pré-operatório e nitratos por via endovenosa (NTG e NPS) no período pós-operatório.....	54
Tabela 7:	Características Clínicas dos pacientes incluídos na análise das concentrações de nitrito/nitrato no CEP e plasma dos períodos pré e pós-operatório.....	55
Tabela 8:	Características Operatórias dos pacientes incluídos na análise das concentrações de nitrito/nitrato no CEP e plasma dos períodos pré e pós-operatório.....	56
Tabela 9:	Evolução do pós-operatório dos pacientes incluídos na análise das concentrações de nitrito/nitrato no CEP e plasma dos períodos pré e pós-operatório.....	56
Tabela 10:	Comparação CR <i>versus</i> CVI das características operatórias, clínicas e concentrações de nitrito/nitrato no CEP do período pré-operatório.....	57
Tabela 11:	Média e Desvio Padrão dos pacientes submetidos a CR e CVI no período pré-operatório e 4, 12, 24, 48 e 72 horas do pós-operatório.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATS/ERS:	American Thoracic Society/European Respiratory Society
ATP:	Trifosfato de adenosina
CEP:	Condensado do Exalado Pulmonar
CEC:	Circulação Extracorpórea
cGMP:	Monofosfato de guanosina ciclíca
cNOS:	Óxido Nítrico Sintase Constitutiva
CO ₂ :	Dióxido de Carbono
CR:	Grupo de Pacientes Submetidos à Cirurgia de Revascularização do Miocárdio
CVI:	Grupo de Pacientes Submetidos à Cirurgia de Troca ou Plastia Valvar Isolada
CRVM:	Cirurgia de Revascularização do Miocárdio
DPOC:	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
eNOS:	Óxido Nítrico Sintase Endotelial
ERDF:	<i>Endothelial-Derivated Relaxing Factor</i>
EV:	Endovenosa
FMRP:	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
H ₂ O ₂ :	Peróxido de hidrogênio
HCRP:	Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto
HP:	Hipertensão Pulmonar
IECA:	Inibidores da enzima conversora de Angiotensina

iNOS:	Óxido Nítrico Sintase Indutiva
LBA:	Lavado Broncoalveolar
μl:	Microlitros
μM:	Micromols
ml:	Mililitros
NADPH:	Nicotinamida-adeninadinucleotídeo- fostato-hidrogênio
nNOS:	Óxido Nítrico Sintase Neuronal
NO:	Óxido Nítrico
NO ₂ ⁻ :	Nitrito
NO ₂ :	Dióxido de nitrogênio
NO ₃ ⁻ :	Nitrato
NOS:	Óxido Nítrico Sintase
NO _x :	Óxidos de nitrogênio
NTG:	Nitroglicerina
NPS:	Nitroprussiato de Sódio
O ₂ :	Oxigênio
O ₂ ⁻ :	Ânion superóxido
ONOO ⁻ :	Peróxinitrito
PCARP:	Prefeitura do Campus Ribeirão Preto
SOD:	Super-óxido dismutase

SPSS: *Statistical Package of the Social Sciences*

UPOTV: Unidade de Pós-Operatório da Cirurgia Torácica e Cardiovascular

USP: Universidade de São Paulo

VO: Via oral

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	21
1 REVISÃO DA LITERATURA.....	23
1.1 O ÓXIDO NÍTRICO	23
1.1.1 Histórico	23
1.1.2 Síntese do óxido nítrico	23
1.1.3 Isoformas das óxido nítrico sintases (NOS)	24
1.1.4 O Óxido Nítrico no Organismo	25
1.1.5 O Óxido Nítrico na Via Aérea.....	26
1.1.6 Óxido Nítrico e a Cirurgia Cardíaca.....	27
1.1.7 Hipertensão Pulmonar	28
1.2 CONDENSADO DO EXALADO PULMONAR	29
1.2.1 Aparatos para Coleta do CEP	30
1.2.2 Coleta do CEP	32
1.2.3 CEP e a Cirurgia Cardíaca.....	34
1.2.4 CEP e as Patologias Respiratórias	35
1.3 NITRITO/NITRATO NO PLASMA	35
2 OBJETIVO	36
3 PACIENTES E MÉTODOS	37
3.1 LOCAL DE PESQUISA	37
3.2 SELEÇÃO DOS PACIENTES.....	37
3.2.1 Critérios de Exclusão.....	37
3.3 MÉTODOS	38
3.3.1 Anestesia.....	38
3.3.2 Operação cardíaca.....	38
3.3.3 Aparato de Coleta do Condensado do Exalado Pulmonar (CEP).....	39
3.3.4 Procedimento de Coleta.....	43
3.3.5 Protocolo de Coleta no Grupo Cirúrgico no Período Pré-operatório (pré-op)	43
3.3.6 Protocolo de Coleta no pós-operatório 4 horas após o término da CEC (4hs PO).....	43
3.3.7 Coleta do grupo cirúrgico 12 horas, 24 horas, 48 horas e 72 horas após extubação (12 hs PO, 24 hs PO, 48 hs PO e 72 hs PO).....	44

3.3.8 Critérios para interrupção da coleta.....	44
3.3.9 Coleta dos dados clínicos e de avaliação fisioterapêutica	44
3.3.10 Armazenamento e Transporte do CEP	45
3.3.11 Desinfecção do aparato de coleta	45
3.3.12 Mensuração do nitrito/nitrato no CEP e no plasma.....	45
4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	48
5 RESULTADOS	49
5.1 PACIENTES.....	49
5.1.1 Pacientes selecionados para o estudo	49
5.1.2 Características dos pacientes operados.....	49
5.2 ANÁLISE DO NITRITO/NITRATO NO CEP E PLASMA DOS PACIENTES OPERADOS NO PERÍODO PRÉ-OPERATÓRIO	53
5.3 ANÁLISE DO NITRITO/NITRATO NO CEP E NO PLASMA DOS PACIENTES SUBMETIDOS A CR E CVI NO PRÉ-OPERATÓRIO E PÓS-OPERATÓRIO.....	54
5.3.1 Pacientes incluídos na análise do nitrito/nitrato no CEP e no plasma nos períodos pré- operatório e pós-operatório.....	54
5.3.2 Análise dos períodos pré e pós-operatórios dos pacientes submetidos a CR e CVI	57
5.3.3 Análise do nitrito/nitrato no CEP do período pré-operatório <i>versus</i> pós-operatório.....	58
5.3.3.1 Análise Intra-grupos do nitrito/nitrato do CEP dos pacientes submetidos a CR e CVI no período pré-operatório <i>versus</i> 4 hs PO, 12 hs PO, 24 hs PO, 48 hs PO e 72 hs P que não utilizaram NTG e NPS no pós-operatório	58
5.3.3.3 Análise do nitrito/nitrato no CEP de pacientes submetidos a CR e CVI: comparação entre a utilização EV da NTG, NPS ou nenhuma medicação EV	61
5.3.4 Análise do nitrito/nitrato no plasma do período pré-operatório <i>versus</i> pós-operatório...62	
5.3.4.1 Análise Intra-grupos do nitrito/nitrato do plasma dos pacientes submetidos CR e CVI do período pré-operatório <i>versus</i> 4 hs PO, 12 hs PO, 24 hs PO, 48 hs PO e 72 hs PO que não receberam NTG e NPS EV no período pós-operatório.	62
5.3.4.2 Análise do nitrito/nitrato no plasma de pacientes submetidos a CR e CVI que utilizaram NTG e NPS EV no pós-operatório <i>versus</i> pacientes submetidos a CR e CVI que não utilizaram NTG e NPS e.v no pós-operatório.....	63
5.3.4.3 Análise do nitrito/nitrato no plasma de pacientes submetidos a CR e CVI. Comparação entre a utilização endovenosa da NTG, NPS ou nenhuma medicação.....	64
6 DISCUSSÃO	65
7 CONCLUSÃO.....	73

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
ANEXOS	81
APÊNDICE	89

INTRODUÇÃO

A descoberta o óxido nítrico (NO) foi relativamente recente e revolucionária. Por se tratar de uma molécula cujo papel na fisiologia e na fisiopatologia é amplo, complexo e algumas vezes antagônico, foi necessária a revisão dos paradigmas da medicina (FLORA FILHO & ZILBERSTEIN, 2000).

No organismo o NO é sintetizado a partir da L-arginina (IGNARRO et al, 1996) pelas enzimas óxido nítrico-sintase (NOS). Um aspecto marcante desta molécula é a sua capacidade de ser benéfica ou potencialmente tóxica, conforme a situação na qual esteja envolvida no organismo (FLORA FILHO & ZILBERSTEIN, 2000).

O NO participa de diversos processos no sistema respiratório e é proveniente do epitélio da via aérea ou do endotélio vascular pulmonar, podendo ser identificado em sua fase gasosa ou na fase fluída como os íons nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-). Após ter sido reconhecido como um importante mediador no ar exalado, o NO vem sendo utilizado para o acesso à inflamação das vias aéreas a partir de técnicas não-invasivas (GUSTAFSSON et al 1991). Porém a bioquímica do NO nas doenças das vias aéreas não é completamente conhecida (MONTUSCHI, 2005) e a função das várias isoenzimas no desenvolvimento das doenças relacionadas ao pulmão ainda não foi completamente esclarecida (PUHAKKA et al, 2006).

Uma das técnicas não-invasivas disponíveis para avaliação do NO nas vias aéreas é o condensado do exalado pulmonar (CEP) (HORVÁTH, HUNT & BARNES, 2005) que pode ser utilizado para a investigação das vias aéreas distais (MOLONEY et al, 2004). O interesse nesta técnica vem crescendo rapidamente e vem acumulando evidências que sugerem que o CEP tem potencial para se tornar um método validado, que proverá informações para o entendimento dos processos inflamatórios nas vias aéreas (KOSTIKAS et al, 2008). Neste contexto, estudos relacionando o uso da coleta do CEP com as investigações de doenças pulmonares como a asma (KARITONOV, 2004), a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) (LIU, et al 2007) e a fibrose cística (FC) (HO, INNES & GREENING, 1998), vêm sendo desenvolvidos e publicados mundialmente.

A circulação extracorpórea (CEC) habitualmente empregada na cirurgia cardiovascular, embora imprescindível para a realização de muitas operações, pode acarretar ou agravar disfunções orgânicas, dentre elas a disfunção pulmonar no pós-operatório (BRASHER et al, 2003), sendo esta uma causa importante de morbidade e mortalidade pós-operatória (ROMANINI et al, 2007). A maior parte dos estudos disponíveis na literatura tem

relacionado o NO e a cirurgia cardíaca utilizando o exalado pulmonar (NO em sua forma gasosa) mostrando que há alterações no NO exalado após este procedimento (PEARL et al, 2000; ISHIBE et al 2000). No CEP o NO pode ser mensurado na fase aquosa através de seus subprodutos: o nitrito e o nitrato. Além de avaliar o NO, o método do CEP pode prover um grande número de outros mediadores coletados no fluído obtido.

Dois estudos prévios já foram realizados com um aparato de coleta artesanal do CEP no Departamento de Cirurgia e Anatomia da FMRP-USP. Este aparato foi capaz de dosar a quantidade de nitrito, e foi utilizado em pesquisas com voluntários saudáveis e em pacientes submetidos à cirurgia cardíaca. O aparato foi capaz de coletar o CEP, possibilitando a dosagem de nitrito. Uma das limitações do método e do aparato utilizado foi a impossibilidade da realização da coleta durante o período de ventilação mecânica devido a problemas com a temperatura de congelamento e com a própria metodologia (AUGUSTO et al 2011; REIS et al, 2010). Por este motivo, outro aparato de coleta foi desenvolvido para realização da pesquisa atual e outras pesquisas. Este aparato propiciou a coleta do CEP tanto em ventilação espontânea como durante a ventilação mecânica. Este aparato já foi utilizado no estudo de Vento, Arcêncio & Rodrigues (2012) para a avaliação de 116 voluntários saudáveis.

Diante do exposto, aplicamos neste estudo o método do CEP para elucidar participação do NO na via aérea combinando as variáveis que envolvem a rotina da cirurgia cardíaca e que podem levar a disfunção do endotélio vascular e pulmonar com os períodos que compreendem o processo da cirurgia cardíaca: o pré-operatório e o pós-operatório.

1 REVISÃO DA LITERATURA

Neste item propõe-se uma breve revisão da literatura a respeito do NO com assuntos pertinentes aos processos em que ele esteve relacionado nesta pesquisa.

1.1 O ÓXIDO NÍTRICO

1.1.1 Histórico

No final da década de 80 e início de 90, é que a comunidade científica começou a adicionar importantes conhecimentos sobre o NO como mensageiro sinalizador inter e intracelular e como toxina, atuando em inúmeros processos patológicos (FLORA FILHO & ZILBERSTEIN, 2000). Uma das primeiras linhas de estudo foi iniciada por Furchgott & Zawadzki (1980) que demonstraram o papel do endotélio vascular no relaxamento do vaso sanguíneo. Eles propuseram que o relaxamento dos vasos sanguíneos pela acetilcolina requeria a presença das células endoteliais, sendo esta inteiramente dependente da liberação de um fator essencial para o relaxamento vascular que foi denominado *endothelial-derived relaxing factor* (ERDF). Esse mecanismo, segundo eles, aplicava-se tanto no caso dos pequenos vasos quanto no caso das grandes artérias. A seguir, Palmer, Ferrige & Moncada (1987) demonstraram que a liberação de NO pelas células endoteliais foi indistinguível do ERDF em termos de atividade biológica, estabilidade e susceptibilidade como um inibidor ou potencializador, o que sugeriu que o ERDF e o NO eram idênticos.

1.1.2 Síntese do óxido nítrico

A formação do NO requer a presença da L-arginina que é o seu substrato endógeno (PALMER, ASHTON & MONCADA, 1988) e da isoenzima nicotinamida-adeninadinnucleotídeo- fostato-hidrogênio (NADPH) (MARLETTA et al 1988; PALMER, ASHTON & MONCADA, 1988). A partir do NADPH, a L-arginina é transformada em um intermediário, a NG-hidroxi-L-arginina. Este processo também requer presença da calmodulina (Ca_2^+) (FLORA FILHO & ZILBERSTEIN, 2000) que são células independentes

do NO. As células de Ca_2^+ são induzidas por lipopolissacarídeos e pelo interferon- γ , sintetizando o NO e a citrulina a partir da L-arginina. O oxigênio molecular (O_2) é a fonte do oxigênio presente na formação do NO e da citrulina (LEONE et al, 1991) (Figura 1).

Figura 1: Formação do NO a partir do substrato L-arginina.

1.1.3 Isoformas das óxido nítrico sintases (NOS)

O NO é sintetizado pelas enzimas óxido nítrico-sintases (NOS), que constituem uma família de três isoenzimas distintas, sendo que cada uma tem um único mecanismo de regulação e distribuição nos tecidos do corpo (KIECHELE & MALINSKI, 1993; MONCADA, PALMER & HIGGS, 1991). Elas são agrupadas em duas categorias, a NOS constitutiva (c-NOS), que é dependente de íons cálcio e de calmodulina a qual está envolvida na sinalização celular e, a NOS indutível (i-NOS) que é produzida pelos macrófagos e outras células ativadas por citocinas (MARLETA et al, 1988; MONCADA, PALMER & HIGGS, 1991). A c-NOS pode ser subdivida em dois tipos: a NOS neuronal (isoforma I ou n-NOS) que é predominantemente expressada nos neurônios e a NOS endotelial (isoforma III ou e-NOS), que é principalmente expressada nas células endoteliais, embora outros tipos de células possam expressar essas isoformas. A NOS indutível (isoforma II ou i-NOS), tem um grande nível de atividade e é independente da concentração de cálcio. A i-NOS pode ser induzida por citocinas inflamatórias, endotoxinas, infecções virais e pode mostrar uma expressão aumentada em doenças inflamatórias (BARNES & BELVISI, 1993). Em uma resposta inflamatória a partir da resposta adaptativa, como na infecção ou na sepse, ocorre a expressão benéfica da i-NOS, protegendo os tecidos de danos em resposta a inflamação aguda sistêmica (MORRIS & BILLIAR, 1994).

1.1.4 O Óxido Nítrico no Organismo

O NO, após reagir com o O_2 forma dois produtos estáveis que são o nitrito (NO_2^-) e o nitrato (NO_3^-) (GASTON et al, 1994). O principal produto da oxidação espontânea do NO em uma solução aquosa na ausência de contaminação por constituintes biológicos, como as hemoproteínas, é o NO_2^- . Nenhuma isoforma constitutiva ou indutível da NOS cataliza a oxidação da L-arginina para NO_3^- e, além disso a L-arginina derivada do NO não é oxidada até NO_3^- a menos que a contaminação por hemoproteínas esteja presente (IGNARRO et al, 1996). O NO_2^- é uma base fraca e com um tempo de vida curta em solução aquosa, devendo ser oxidado rapidamente a NO_3^- , sendo que mais de 95% do NO_2^- é oxidado até NO_3^- no sangue (MOSHAGE, KOK & HUIZENGA, 1995).

A formação do óxido nítrico a partir da L-arginina em macrófagos sugere que o processo serve como um sinal de ativação para essas células, similarmente ao que é observado nas células endoteliais. O NO é um intermediário no processo em que os macrófagos transformam a L-arginina em NO_2^- e NO_3^- . Este processo é requerido por estas células para atingir a atividade essencial de morte celular. Esse mesmo processo quando expressado nas células endoteliais, pode produzir o relaxamento da musculatura lisa vascular. Assim, o caminho parece ser idêntico em ambos os tipos de células, embora as funções desses tipos de células sejam muito diferentes. Então, o entendimento sobre as enzimas e a regulação desse processo pode prover uma base racional para o controle da vasodilatação assim como para o sistema imune (MARLETTA et al 1988).

Nos processos infecciosos as células ativadas (macrófagos, neutrófilos e células endoteliais) secretam simultaneamente o NO e intermediários reativos do oxigênio. Assim ocorre uma reação tóxica entre o NO e o ânion superóxido (O_2^-) que resulta na formação do peroxinitrito ($ONOO^-$) que por sua vez, é um poderoso antioxidante de proteínas. O $ONOO^-$ pode protonar-se na presença do íon hidrogênio, originando o hidroxil ($HO^\cdot$) que é um radical altamente tóxico, o que irá aumentar ainda mais a ação tóxica decorrente da interação do NO com o O_2^- (BECKMAN & KOPPENOL, 1996). A infusão da super-óxido dismutase (SOD) nos tecidos reduz a degradação do ERDF e do NO em similar extensão, indicando que o O_2^- contribui para a inativação de ambos os componentes (PALMER, FERRIGE & MONCADA, 1987).

Portanto, a magnitude da produção do NO aparece para determinar o benefício *versus* seus efeitos críticos determinantes. Está claro que o excesso de produção de NO pode destruir

não somente apenas fontes celulares, mas também tecidos na maioria dos casos (JAMES, 1995)

1.1.5 O Óxido Nítrico na Via Aérea

O NO tem vários papéis nas vias aéreas, variando de modulador endógeno da função da via aérea até mediador pró-inflamatório e imunomodulador nas condições fisiopatológicas. Estas ações podem ser determinadas pelas concentrações geradas sob circunstâncias específicas, como também o local e o tempo de sua síntese (RICCIARDOLO, 2003).

Quando produzido a partir da c-NOS, o NO é responsável pela homeostase das vias aéreas mantendo o calibre brônquico e regulando a frequência dos movimentos ciliares; e, na circulação pulmonar, equilibra a relação ventilação-perfusão (FLORA FILHO & ZILBERSTEIN, 2000). A i-NOS, quando ativada no epitélio brônquico, é responsável pela defesa imunológica a agentes externos inalados, principalmente pelo recrutamento de macrófagos epiteliais e sub-epiteliais. Ainda, a i-NOS libera grandes quantidades (concentrações nanomolares) de NO pró-inflamatório muitas horas após a exposição ao agente agressor e continua a manter a liberação por horas ou dias (RICCIARDOLO, 2003).

Além de regulador da função, o NO é um regulador trans-epitelial do movimento dos íons e, mudanças na sua geração e atividade, têm papel importante na patogênese das doenças pulmonares caracterizadas pela hipersecreção de líquidos na superfície da via aérea. O NO tem efeito antiproliferativo sobre as células da musculatura lisa das vias aéreas, diminuindo a remodelação das vias aéreas (RICCIARDOLO, 2003).

O NO é uma molécula de meia-vida curta quando em solução aquosa. Mas possui grande capacidade de difusão podendo ser liberado na via aérea. O NO encontrado na via aérea, sob condições normais, pode também ser proveniente da microvasculatura pulmonar (KÖVESI et al 2, 2003). Esta importante informação foi reforçada por estudos recentes que utilizaram drogas doadoras de NO (nitroglicerina e/ou nitroprussiato de sódio) por via endovenosa demonstrando que o NO exalado aumentou após esta intervenção (KOVESI et al 1, 2003).

1.1.6 Óxido Nítrico e a Cirurgia Cardíaca

A CEC causa uma série de alterações na hemostasia, devido à passagem do sangue pela superfície não epitelizada (JOÃO & FARIA JUNIOR, 2003). Este fato impõe ao organismo um número de alterações importantes, como a mudança do regime do fluxo sanguíneo, possível aumento do gradiente de temperatura e estresse mecânico sobre os elementos figurados do sangue devido ao seu contato com superfícies não endoteliais (filtros, compressão, turbulências). Durante a CEC fica evidente o aumento das interleucinas circulantes, como resultado do contato do sangue com a superfície não endotelial, levando a uma cascata de reações inflamatórias com consequências trans-cirúrgicas e pós-cirúrgicas. Estas reações sempre acontecem, em menor ou maior grau, e são mais evidentes e deletérias em idosos e neonatos, podendo manifestar-se como uma febre ou até mesmo levar à morte do paciente (MOURA, POMERANTZEFF & GOMES, 2001).

As alterações da função pulmonar observadas após a cirurgia cardíaca com CEC dependem de vários fatores, como a função pulmonar pré-operatória, o tipo e a duração da cirurgia e da CEC, a intensidade da manipulação cirúrgica e o número de drenos pleurais. A anestesia geral propicia o aparecimento de atelectasias que influenciam diretamente na função pulmonar, alterando a relação ventilação/perfusão pulmonar, ocasionando um aumento do *shunt* pulmonar, podendo interferir na eliminação do dióxido de carbono (CO₂). A ativação generalizada da resposta inflamatória sistêmica durante a CEC causa edema, diminuição da contratilidade ventricular, aumento da permeabilidade e alteração da resistência vascular em vários órgãos. Ocorre aumento da água extra vascular pulmonar com preenchimento alveolar por células inflamatórias que levam à inativação do surfactante pulmonar e colapso de algumas áreas, com modificação na relação ventilação/perfusão pulmonar, diminuição da complacência e aumento do trabalho respiratório (MIYAJI, BUSCATI, RODRIGUEZ e col, 2004).

Durante a isquemia que ocorre na cirurgia cardíaca ocorre hipóxia. E, segundo observado por Furchgott & Zawadzki (1980), em anóxia a acetilcolina produz pequeno ou nenhum relaxamento dos vasos. Se a isquemia é severa o suficiente, o metabolismo diminui e a geração dos compostos de alta energia, como o trifosfato de adenosina (ATP), consequentemente declina. Essa diminuição da energia metabólica finalmente leva a uma lenta, mas significativa lesão tecidual e necrose. Essa lesão tecidual é depois aumentada e acelerada pela reperfusão (LEFER & LEFER, 1993).

A redução da liberação de NO durante a reperfusão ocorre devido ao aumento da inativação do NO pelos radicais superóxidos (LEFER & LEFER, 1996) e pela inativação da NOS (KUROSE et al, 1994). Segundo Komai et al (2001) após a cirurgia cardíaca a diminuição da expressão da e-NOS pode ocorrer pelas lesões causadas pela CEC.

A cirurgia de revascularização do miocárdio (CRVM) causa uma ativação neutrofílica que leva à formação de radicais livres. Estes mecanismos podem levar o NO a formar os peróxinitritos que causam uma diminuição da biodisposição do NO, e que por sua vez poderia produzir uma diminuição no monofosfato de guanosina cíclica (cGMP), o qual representa o indicador da diposição biológica do NO (LAMARCHE et al, 2004).

O NO endógeno tem um papel dominante na modulação do vaso, no diâmetro do vaso e na resistência vascular. Por esta razão, alterações em sua síntese ou atividade podem ter participação importante no vasoespasma ou no estado hipertensivo. Por causa de sua habilidade de inibir a interação do sangue circulante com elementos da parede do vaso sanguíneo, um déficit na sua produção endógena pode promover trombose vascular, reestenose, aterogênese e lesão de reperfusão (COOKE & TSAO, 1993).

A redução marcada na liberação de NO após a reperfusão caracteriza a disfunção endotelial, que é seguida por um aumento da aderência de leucócitos ao endotélio reperfundido (LEFER & LEFER, 1996).

1.1.7 Hipertensão Pulmonar

O aumento da resistência que leva à hipertensão pulmonar (HP) pode ser resultante de doenças que afetam o ventrículo esquerdo ou o pericárdio, de valvopatia mitral ou aórtica, ou de doenças raras como o *cor triatum*, o mixoma atrial esquerdo e a doença venoclusiva pulmonar (RICH, BRAUNWALD & GROSSMAN, 1999).

Na HP ocorrem modificações estruturais no leito vascular pulmonar como o edema das células endoteliais e dos capilares pulmonares, o espessamento das lâminas basais dos vasos e um grande afastamento entre os grupos de fibrilas do tecido conjuntivo, caracterizando o edema intersticial (KAY & EDWARDS, 1986). Ainda há uma distensão dos capilares pulmonares com espessamento e ruptura das membranas basais das células endoteliais e transudação de eritrócitos para dentro dos espaços alveolares (HICKS, 1953).

A expressão da e-NOS na vasculatura pulmonar aumenta quando a doença vascular obstrutiva pulmonar progride. Este NO intrínseco é produzido na periferia do tecido vascular pulmonar em pacientes com hipertensão e alta resistência pulmonar para compensar a alta

pressão vascular (KOMAI et al, 2001). O exalado pulmonar do NO pode ser utilizado como um biomarcador na HP. Achados mostram que os níveis de NO exalado são notavelmente diminuídos nestes pacientes, pois ocorre um decréscimo da concentração do NO nos tecidos das paredes das vias aéreas pela diminuição da produção e/ou aumento do consumo pulmonar de NO o que pode contribuir para a patogênese da hipertensão pulmonar (GIRGIS et al, 2005).

A circulação pulmonar do paciente com HP secundária a defeitos cardíacos congênitos ou doença valvar mitral adquirida é mais vulnerável a qualquer lesão causada por radicais livres. Sendo assim, estes pacientes podem apresentar no pós-operatório de cirurgia cardíaca problemas vasculares severos como o agravamento da hipertensão pulmonar (KOMAI et al, 1993).

1.2 CONDENSADO DO EXALADO PULMONAR

O CEP é coletado a partir do resfriamento do ar exalado e por isso é uma técnica totalmente não-invasiva (KHARITONOV & BARNES, 2001; MOLONEY et al, 2004) e não tem sido associada a efeitos diversos (MOLONEY et al, 2004; ROBROEKS et al, 2008).

As moléculas do CEP são resultantes dos brônquios e /ou alvéolos, da evaporação das superfícies das vias aéreas, do espaço morto anatômico e das vias aéreas superiores (CORRADI et al, 2003; AMERICAN THORACIC SOCIETY, 2006). O fluido do CEP pode fornecer com segurança informação sobre a composição dos fluídos das vias aéreas e tem potencial para prover evidências sobre as doenças nas vias aéreas, particularmente a respeito da inflamação (AMERICAN THORACIC SOCIETY, 2006). O CEP contém um grande número de mediadores inflamatórios, incluindo a adenosina, amônia, peróxido de hidrogênio, isoprostanos, leucotrienos, óxidos de nitrogênio (nitrito e nitrato), peptídeos e citocinas (HORVÁTH, HUNT & BARNES, 2005).

No ar exalado apenas uma porção formada do NO é liberada. A outra parte é oxidada, transformando-se em espécies reativas com efeitos significativos (AMERICAN THORACIC SOCIETY, 2006). O NO_2^- e o NO_3^- são óxidos de nitrogênio (NO_x) produtos do metabolismo do NO nas formas de redução do nitrogênio, que estão presentes na cobertura do fluido epitelial do trato respiratório humano e podem ser detectados no CEP (HORVÁTH, HUNT & BARNES, 2005; KOSTIKAS et al, 2008).

O condensado do exalado pulmonar tem potencial para complementar o lavado broncoalveolar na investigação do trato respiratório distal (MOLONEY et al, 2004) e está

tornando-se claro que os complexos químicos do NO_x encontrados no CEP e a fração de NO exalado podem tornar-se complementares, e não equivalentes (AMERICAN THORACIC SOCIETY, 2006).

Para alguns biomarcadores presentes no CEP, há uma grande variabilidade de concentrações relatadas em diferentes estudos, o que pode ser parcialmente explicado pela falta de uma padronização do método do CEP e as diferentes técnicas analíticas. A padronização da análise do CEP é presentemente o principal ponto nesta área de pesquisa. Estudos devem ser feitos com o propósito de formalmente referirem-se a dois aspectos: padronização da coleta de amostras e seu armazenamento; e, padronização dos métodos analíticos para mensurar as diferentes moléculas no CEP. Esta técnica pode ser parte de uma integração que consiste na avaliação clínica, teste de função pulmonar e possibilidade de técnicas não-invasivas (MONTUSCHI, 2005).

1.2.1 Aparatos para Coleta do CEP

O uso de aparatos disponíveis comercialmente para coleta do CEP, pode no futuro ajudar a superar problemas potenciais que aparecem pelo uso de diferentes aparatos. No entanto, nenhum dado está ainda disponível para mostrar que o uso desses aparatos resulta em melhor reprodutibilidade dos dados (HORVÁTH, HUNT & BARNES, 2005).

Atualmente há quatro sistemas comerciais de coleta do CEP disponíveis, sendo que nenhum deles é comercializado no Brasil. Os aparatos comerciais disponíveis são: *RTubeTM* (Respiratory Research Inc, Charlottesville, VA, USA) na Figura 2, *ECoScreen* (Jaeger, Wurzburg, Alemanha) na Figura 3, o *Anacon* (Biostec, Valência, Spain) na Figura 4 e o *TurboDeccs* (Italchil, Parma, Italy) na Figura 5. Poucos estudos envolvendo os dois últimos dispositivos foram relatados (MONTUSCHI & BARNES 2002; LEMA et al 2005).

Figura 2: A – Foto R[®]Tube. B – Esquema R[®]Tube seccionado (Respiratory Research Inc, Charlottesville, VA, USA). Disponível em: <http://www.rtube.com/>.

Figura 3: A- Foto EcoScreen ® (Jaeger, Wurzburg, Alemanha). Disponível em: www.viasyshealthcare.com. B- Esquema funcional do EcoScreen®. In: MONTUSCHI, P. Indirect monitoring of lung Inflammation. **Nature**, v. 1, p.238-242, 2002.

Figura 4: Condensador Anacon Biostec acoplado ao circuito de ventilação mecânica. In: ROMERO, P.V. RODRÍGUEZ, B. MARTÍNEZ, S. CAÑIZARES, R. SEPÚLVEDA, D. MANRESA, F.. Estrés oxidativo en el condensado exhalado de pacientes con infección pulmonar grave. **Arch Bronconeumol**, v. 42(3), p.113-9, 2006.

Figura 5: TurboDeccs conectado em série em um estudo de Corradi et al (2008). In: CORRADI, M. GOLDONI, M. CAGLIERI, A. FOLESANI, G. POLI, D. CORTI, M. ANTONIO MUTTI, A. Collecting Exhaled Breath Condensate (EBC) with Two Condensers in Series: A Promising Technique for Studying the Mechanisms of EBC Formation, and the Volatility of Selected Biomarkers. **Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery**, v. 21 (1), p.35-44, 2008.

Mas, mesmo com a disponibilidade dos aparatos comerciais existem numerosos sistemas artesanais sendo utilizados (AMERICAN THORACIC SOCIETY, 2006).

1.2.2 Coleta do CEP

A *American Thoracic Society* e a *European Respiratory Society* (ATS/ERS) produziram uma publicação com o objetivo de direcionar e padronizar a execução do método de coleta do CEP para que haja a formulação e estabelecimento de um consenso acerca do melhor método a ser empregado (AMERICAN THORACIC SOCIETY, 2006). Abaixo seguem estas recomendações da ATS e ERS e mais alguns pontos que devem ser levados em consideração elucidados em estudos encontrados na literatura:

- a) Ventilação durante a coleta: na coleta do CEP deve ser usada uma respiração regular (HORVÁTH, HUNT & BARNES, 2005) e o indivíduo deve ser instruído a respirar normalmente para evitar a hiperventilação (AMERICAN THORACIC SOCIETY, 2006).
- b) Tempo de coleta: o tempo de coleta de 10 minutos é recomendável para a maioria dos mediadores, provendo uma amostra adequada para a análise e sendo bem tolerado pelos pacientes e voluntários (HORVÁTH, HUNT & BARNES, 2005). É sugerido que testes de função pulmonar forçados não sejam executados em um período de 10 minutos antes da coleta (AMERICAN THORACIC SOCIETY, 2006).
- c) Temperatura: A condensação pode ser executada em uma temperatura por volta de 0° C usando gelo (salgado) quando o CEP é coletado como um fluido. Também pode ser coletado em baixas temperaturas usando diferentes técnicas (gelo seco e nitrogênio líquido), o que resulta em coleta de material congelado. Reis et al (2010) observaram que o gelo triturado com sal foi mais eficiente na coleta do CEP com relação ao volume coletado. As amostras do CEP não devem ser deixadas fora de temperatura adequada após as coletas. Isto é importante não apenas devido à interação com o ar ambiente, mas também porque substâncias serão degradadas e formadas no CEP mais rapidamente em temperaturas mais elevadas (HORVÁTH, HUNT & BARNES, 2005).
- d) Armazenamento: deve ser tomado cuidado na coleta do CEP com o armazenamento, quando o NO_2^- e o NO_3^- são os íons de interesse, para não haver

contaminação ou oxidação das substâncias no fluído (AMERICAN THORACIC SOCIETY, 2006).

- e) Clipe Nasal: o uso do clipe nasal é aconselhável para assegurar que nenhuma amostra seja perdida através do nariz e que a inspiração não passe pelo mesmo (HORVÁTH, HUNT & BARNES, 2005).
- f) Hábito Tabágico: o hábito de fumar deve ser documentado, e nos fumantes é aconselhável parar de fumar 3 horas antes do início das medidas para prevenir uma influência aguda do fumo nos níveis dos mediadores (HORVÁTH, HUNT & BARNES, 2005).
- g) Medicações: o uso de certas medicações contendo doador de NO como o Nitroprussiato de Sódio e a Nitroglicerina ou inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) como o Enalapril e Captopril, podem interferir nos níveis dos mediadores do CEP e também devem ser documentadas.
- h) Exposição Ocupacional: devem ser consideradas as exposições ocupacionais à formaldeído e ozônio.
- i) Ventilação Mecânica: o CEP pode ser seguramente coletado de pacientes que são ventilados mecanicamente através do tubo endotraqueal (MOLONEY et al, 2004; VAUGHAN et al, 2003; WALSH et al, 2006; ROCA et al, 2010). Achados em pacientes em ventilação mecânica invasiva por tubos endotraqueais sugerem que a acidificação do CEP é um genuíno marcador de inflamação e que pode ter relevância tanto nas partes distais do pulmão como nas vias aéreas (MOLONEY et al, 2004).
- j) Coleta oral do CEP: em contraste com as coletas endotraqueais, a coleta oral do CEP pode receber contribuição das vias aéreas superiores, sendo que estas contêm os marcadores que também podem ser encontrados no CEP, assim afetando as concentrações dos mediadores. A contaminação salivar também pode afetar a confiabilidade da leitura do pH do CEP (MOLONEY et al, 2004). Mas, atualmente os sistemas de coleta usados para a coleta do CEP usualmente incorporam métodos para limitar a contaminação salivar (AMERICAN THORACIC SOCIETY, 2006).
- k) Outros fatores de interferência relevantes: manobras de espirometria realizadas, exercícios físicos, doenças de vias aéreas superiores, ciclo menstrual, altitudes moderadas, fração inspirada de O₂ a 100% e ingestão de álcool (KHARITONOV & BARNES; 2001).

1.2.3 CEP e a Cirurgia Cardíaca

A maior parte dos estudos relacionando o NO com a cirurgia cardíaca disponíveis na literatura foram realizados analisando o NO na forma gasosa. Neste sentido denominamos neste estudo está técnica de óxido nítrico exalado (NO exalado). Os níveis do NO exalado podem ser úteis para monitorar as lesões endoteliais induzidas pela cirurgia cardíaca e os efeitos das estratégias para diminuir cada lesão (BEGHETTI et al, 1998).

Alguns estudos apontam que o NO exalado basal é significativamente reduzido depois da cirurgia cardíaca em humanos. Isto pode ocorrer como resultado do decréscimo da produção endógena do óxido nítrico pela lesão do endotélio vascular pulmonar (BEGHETTI et al, 1998). Esta diminuição na produção do NO exalado pode ser associada com alterações na função e na mecânica pulmonar durante a hipóxia. Ainda, observa-se que depois da re-oxigenação, os níveis de NO mantêm-se baixos, o que indica possivelmente lesão do epitélio brônquico (PEARL et al, 2000). Ishibe et al (2000) observaram em seu estudo que os valores da pressão da artéria pulmonar (PAP) e o gradiente alveolar de O_2 ($P(A-a)O_2$) aumentaram enquanto a complacência pulmonar diminuiu após a CRVM. Essas mudanças coincidiram com o decréscimo do NO exalado. Um aumento significativo no NO exalado somente foi observado 16 horas após a CRVM, que foi consistente com a recuperação fisiológica da hipertensão pulmonar, da complacência pulmonar e da troca gasosa pulmonar. Outros estudos como o de Kövesi et al (2003) e Malmström et al (2003) não observaram alterações nos níveis basais de NO exalado antes e após a cirurgia cardíaca. Os estudos elucidados acima relativos ao NO exalado foram realizados com o paciente sob ventilação mecânica.

Augusto et al (2011) utilizaram o método de coleta do CEP para avaliar pacientes submetidos à cirurgia cardíaca (valvopatas e coronariopatas) no período pré-operatório e pós-operatório (24 horas) com o paciente em ventilação espontânea (extubado). Os autores observaram que os pacientes apresentaram níveis de NO_2^- mais elevados no CEP quando comparados a voluntários saudáveis. Nos pacientes submetidos à cirurgia valvar os níveis de NO_2^- diminuíram no período pós-operatório.

Roca et al, 2010 observaram que pacientes submetidos a ventilação mecânica possuem níveis mais elevados de nitrito/nitrato no CEP quando comparados a indivíduos saudáveis não submetidos a ventilação mecânica. Os níveis do pH do CEP foram correlacionados com a duração da ventilação mecânica.

Até o momento o único estudo encontrado na literatura relacionando simultaneamente o CEP e a cirurgia cardíaca durante a ventilação mecânica é o trabalho de

Moloney et al (2004). No entanto neste estudo só foram dosados os biomarcadores: leucotrieno B-4, mieloperoxidase e peróxido de hidrogênio. O aparato comercial utilizado para coleta foi o R Tube® adaptado à ventilação mecânica. As amostras foram coletadas antes e 30 minutos após o procedimento cirúrgico. Os autores observaram que CEP foi sensível aos marcadores inflamatórios e ao estresse oxidativo depois de uma lesão pulmonar, ainda que, clinicamente não detectada.

1.2.4 CEP e as Patologias Respiratórias

O CEP pode refletir o NO liberado pelo epitélio das vias aéreas e assim pode ser utilizado na monitorização e no estudo das patologias respiratórias (KHARITONOV, 2004; LIU et al, 2007). Tem sido documentado na literatura que em pacientes asmáticos ocorre aumento nos níveis de NO no ar exalado (KHARITONOV et al 2004; PERSSON et al, 1994) e nos níveis de NO_3^- no CEP quando comparados a indivíduos normais possivelmente devido ao quadro inflamatório presente (CORRADI et al, 2003). Nos portadores de Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) os níveis de NO exalado encontrados também são significativamente maiores aos níveis encontrados em fumantes e não-fumantes saudáveis (LIU et al, 2007). Mas com relação aos níveis do NO_x no CEP, estudos têm mostrado que ex-fumantes portadores de DPOC têm níveis menores em comparação com os níveis encontrados no CEP de indivíduos saudáveis não-fumantes e ex-fumantes (LIU et al 2007; CORRADI et al 2003).

1.3 NITRITO/NITRATO NO PLASMA

Estudos envolvendo a dosagem do NO_x no plasma estão presentes na literatura. No entanto há carência de estudos comparando os níveis de NO_x plasmáticos com os níveis de NO_x no CEP. Augusto et al (2011) estudaram além dos níveis de NO_2^- no CEP, os níveis de NO_2^- no plasma e observaram um aumento nos níveis plasmáticos no período pós-operatório em pacientes submetidos à cirurgia de revascularização do miocárdio quando comparados ao período pré-operatório. Não encontraram correlação dos níveis de NO_2^- do CEP com o plasma quando estudado o período pré-operatório e pós-operatório (24 horas após realização da cirurgia).

2 OBJETIVO

1. Analisar o nitrito/nitrato no CEP e no plasma de pacientes coronariopatas e valvopatas candidatos à cirurgia de revascularização do miocárdio ou cirurgia valvar isolada com circulação extracorpórea e avaliar sua evolução até 72 horas do pós-operatório.
2. Observar se a utilização de medicações contendo nitrato ou inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA) nos períodos pré e pós-operatório podem influenciar nas concentrações de nitrito/nitrato no CEP e no plasma dos pacientes participantes deste estudo.

3 PACIENTES E MÉTODOS

3.1 LOCAL DE PESQUISA

Esta pesquisa foi realizada no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto – FMRP/USP, onde se situam a Unidade de Pós-Operatório da Cirurgia Torácica e Cardiovascular (UPOTV) e a Enfermaria da Cirurgia Torácica e Cardiovascular, localizada no 9º andar. As pesquisas tiveram início apenas após a aprovação pelo Comitê de ética em pesquisa da instituição no qual este trabalho foi remetido (Processo HCRP nº 3228/2009 – Anexo I).

3.2 SELEÇÃO DOS PACIENTES

Foram convidados a participar do estudo os pacientes candidatos a operações cardíacas para revascularização do miocárdio ou correção de valvopatia (correção mitral e/ou aórtica), de ambos os sexos, maiores de 18 anos, operados eletivamente no período de 13/05/2009 a 02/07/2011. Os voluntários leram e assinaram o “Termo de consentimento livre e esclarecido” após receberem os devidos esclarecimentos sobre sua participação no trabalho (Anexo II).

3.2.1 Critérios de Exclusão

- Indivíduos que não concordaram com os termos de consentimento livre e esclarecido.
- Indivíduos tabagistas ativos ou que tenham parado de fumar há menos de oito semanas do ato cirúrgico.
- Indivíduos que foram operados em caráter de urgência ou emergência.
- Indivíduos submetidos a operações cardíacas associadas.
- Indivíduos vítimas de infarto agudo do miocárdio com menos de 30 dias de evolução.
- Indivíduos com história clínica ou evidência laboratorial de asma brônquica ou DPOC.
- Indivíduos portadores de hipertensão pulmonar primária ou secundária à

patologia não cardíaca.

- Indivíduos portadores de processo infeccioso pulmonar de qualquer natureza
- Indivíduos portadores de qualquer pneumopatia aguda ou crônica, primária ou secundária, com exceção da hipertensão arterial pulmonar de origem cardiogênica.
- Indivíduos que no pós-operatório necessitaram de ventilação mecânica, invasiva ou não, por período que ultrapassou 12 horas do final da operação.
- Indivíduos operados sem CEC

3.3 MÉTODOS

3.3.1 Anestesia

Nos pacientes submetidos a cirurgia cardíaca os procedimentos anestésicos foram realizados conforme a rotina estabelecida pelo médico anesthesiologista designado para o paciente. Habitualmente os pacientes são monitorados com acesso venoso central, monitorização invasiva da pressão arterial mediante punção de artéria radial ou femoral, monitoramento de eletrocardiograma (ECG) de superfície, temperatura esofágica e cateter vesical trans-uretral.

3.3.2 Operação cardíaca

Todas as operações foram realizadas mediante esternotomia mediana. Nos pacientes submetidos à CRVM Foram utilizados enxertos vasculares e técnicas de revascularização do miocárdio mais adequada a cada caso, conforme decisão do cirurgião.

A circulação extracorpórea foi realizada com canulação da aorta ascendente, ou femoral comum na impossibilidade de canulação da aorta, e de ambas as veias cavas. Foi utilizado oxigenador de membranas (Nipro Medical LTDA). O oxigenador foi preenchido com solução de ringer lactato e ao qual foi acrescentado concentrado de hemácias quando o hematócrito previsto em circulação extracorpórea foi menor que 25%. O paciente não foi resfriado ativamente durante a CEC. Foi aceita a temperatura esofágica de até o mínimo de 33°C.

A proteção miocárdica foi realizada mediante infusão anterógrada (aorta ascendente) intermitente (a cada 20 minutos no máximo) de solução cardioplégica sanguínea isotérmica (mesma temperatura do perfusato).

3.3.3 Aparato de Coleta do Condensado do Exalado Pulmonar (CEP)

O aparato utilizado para a realização da coleta do CEP (Figura 6) possui o princípio de funcionamento dos dispositivos comerciais. Foi confeccionado artesanalmente na Oficina de Precisão de Materiais da Prefeitura do Campus de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (PCARP-USP), com material inerte, sendo um tubo de vidro do tipo borosilicato (Duran® Schott-Rohrglas, Mitterteich, Germany) que possui um baixíssimo coeficiente de dilatação o que o torna praticamente resistente a grandes choques térmicos. O vidro possui 18 mm de espessura, tem forma de “U” com extremidades horizontalizadas, comprimento interno total de ponta a ponta de 53,5cm e externo de 63,5 cm. O corpo do tubo em “U” possui 42 cm de diâmetro e 20 cm de comprimento de cada lado, as partes horizontais possuem um menor diâmetro de 22 cm e comprimento de 5 cm. A parte inferior consiste num tubo de junta 14/20, ou seja, 14 mm de espessura por 20 cm de diâmetro e possui comprimento de 5 cm, este possui um orifício no qual é conectado um encaixe confeccionado em resina Teflon® (Polifluor, São Paulo, Brasil) para escoamento do condensado para um microtubo de polipropileno com capacidade de 1,5 ml (Axygen Inc., Union City, California, EUA) onde foi armazenado o condensado durante a coleta. O coletor ficou totalmente submerso em gelo picado protegido por um recipiente térmico de poliestireno durante a coleta do CEP.

Figura 6: Tubo de vidro condensador em forma de “U” com a aberturas laterais para entrada e saída do fluxo de ar e coletor do CEP conectado na abertura inferior do condensador. A: Fotografia. B: Esquema do aparato para coleta do CEP submerso em gelo picado e sal.

Nas coletas realizadas com indivíduos em ventilação espontânea foi conectado a este recipiente de vidro um aparato que possui um bocal e intermediários em plástico e silicone para a conexão de duas válvulas unidirecionais sendo representadas pela válvula exalatória do respirador mecânico BIRD Mark 7® (válvula B e C). A válvula B funciona como a válvula de abertura inspiratória direcionando ar do meio ambiente para o interior do aparato até o indivíduo através de um bocal (A). A válvula C direciona o fluxo expiratório que provém do indivíduo através do bocal para o interior do aparato de vidro. Durante a inspiração a válvula C mantém-se fechada garantido que todo ar inspirado pelo indivíduo provenha do meio ambiente. Da mesma maneira durante a exalação a válvula B mantém-se fechada garantindo que todo fluxo de ar passe pela pelo tubo de vidro. O bocal está localizado em nível inferior a área de conexão com o tubo de vidro servindo como reservatório de saliva, protegendo a amostra da contaminação salivar (Figura 7).

Figura 7: Sistema para coleta em ventilação espontânea. A: bocal. B: válvula inspiratória. C: válvula exalatória. D: local de conexão do recipiente de vidro.

A extremidade oposta do tubo de vidro foi conectada a um ventilômetro digital (DHD Healthcare, New York, USA) com o objetivo de se obter dados sobre os valores de volume minuto e volume corrente durante a coleta CEP. O ventilômetro foi posicionado a extremidade oposta do tubo de vidro para não haver interferência durante a coleta (Figura 8).

Figura 8: Ventilômetro conectado ao tubo em “U”.

Nas coletas realizadas durante a ventilação mecânica o recipiente de vidro foi conectado intercalado ao ramo expiratório do ventilador mecânico situando-se a 35 cm de distância da cânula orotraqueal através de conexões corrugadas do próprio respirador em ambas as extremidades (Figura 9). Neste procedimento o recipiente foi igualmente imerso em gelo picado salgado protegido por recipiente térmico de poliestireno. No ventilador mecânico o controle da ventilação minuto do paciente foi fornecida pelos parâmetros fornecidos pelo mesmo.

O líquido coletado neste recipiente de vidro em “U” foi escoado através da abertura inferior do tubo para um tubo microtubo de polipropileno. A ligação entre a abertura inferior e o microtubo foi feita por um encaixe de teflon como já descrito. O microtubo foi transportado resfriado e estocado em freezer a -70°C para análise posterior.

Figura 9: Esquema e foto Tubo de vidro em “U” conectado entre as extensões do ventilador mecânico sem o recipiente térmico.

3.3.4 Procedimento de Coleta

As mensurações das coletas foram realizadas de acordo com as recomendações da American Thoracic Society (2006). Antes do início, foi pedido aos pacientes que realizassem o enxague bucal com água, exceto em pacientes em ventilação mecânica, conforme descrito na literatura.

Em todos os grupos, foi feita uma coleta antes da operação (pré-operatório), uma coleta 4 horas após a CEC ainda sob ventilação mecânica invasiva e 12, 24 e 48 e 72 horas após extubação (pós-operatório).

3.3.5 Protocolo de Coleta no Grupo Cirúrgico no Período Pré-operatório (pré-op)

Os pacientes se posicionaram sentados, permanecendo nesta posição em repouso por no mínimo 5 minutos. Antes da coleta, os pacientes receberam instrução de como proceder. Um ensaio foi realizado sem o coletor e o aparato de resfriamento, para que o voluntário se adaptasse ao aparato e possíveis erros pudessem ser corrigidos. Após o ensaio o voluntário descansou por mais 5 minutos e com o bocal do aparato de coleta bem acoplado à boca e clipe nasal adequadamente posicionado o voluntário foi instruído a respirar normalmente pelo aparato durante 10 minutos (Figura 10).

Figura 10: Foto de voluntário (modelo) realizando coleta do CEP. A modelo permitiu a publicação da foto.

3.3.6 Protocolo de Coleta no pós-operatório 4 horas após o término da CEC (4hs PO)

A coleta sob ventilação mecânica invasiva foi realizada 4 horas após o término da

CEC. Para tanto, a fração inspirada de oxigênio foi ajustada de 0,4 e o volume corrente será ajustado em 9 ml/kg com frequência respiratória de 12 ventilações por minuto. O umidificador foi desligado 10 minutos antes da coleta. Esses parâmetros são ajustados desta maneira na rotina do pós-operatório da cirurgia cardíaca da UPOTV.

O aparato foi conectado ao ramo expiratório do ventilador mecânico conforme descrito no item 3.3.3 e Figura 9. A coleta foi realizada por 10 minutos sendo o aparato de coleta retirado do ramo expiratório após o término do procedimento.

3.3.7 Coleta do grupo cirúrgico 12 horas, 24 horas, 48 horas e 72 horas após extubação (12 hs PO, 24 hs PO, 48 hs PO e 72 hs PO)

Após a extubação e sob ventilação espontânea, as coletas com 12 horas, 24 horas, 48 hs e 72 hs após a extubação foram realizadas seguindo o protocolo do item 3.3.5. Os indivíduos que não tiveram condições clínicas de sentar fora do leito para realizar a coleta realizaram a coleta no leito, sentados com a cabeceira da cama elevada (semi-sentados no leito). Foi respeitado o período de descanso (sono) dos pacientes sendo que a coletas que deveriam ocorrer no horário compreendido entre 22 horas até 6 horas do dia subsequente foram adiantadas ou postergadas, anotando-se o período de adiantamento ou atraso. Horários de refeição também foram respeitados. As coletas foram realizadas antes das refeições ou pelo menos 2 horas após as mesmas. Em todas as situações descritas foi escolhido o horário que ocasionasse a menor diferença em horas do horário previsto para a coleta.

3.3.8 Critérios para interrupção da coleta

Foi interrompida a coleta quando o indivíduo apresentou sinais de desconforto respiratório (aumento da frequência respiratória, broncoespasmo), queda de saturação periférica de O₂ (SpO₂) a menos de 90%, cianose e/ou instabilidade hemodinâmica, enjoo e vômito durante a execução da coleta ou a pedido do voluntário.

3.3.9 Coleta dos dados clínicos e de avaliação fisioterapêutica

A coleta de informações clínicas foi feita mediante formulários próprios:

Anexo III: Avaliação Fisioterapêutica

Anexo IV: Formulário de Coleta de Dados Clínicos do período pré-operatório.

Apêndice I: Dados clínicos e dados da ventilação do paciente nos períodos da coleta.

3.3.10 Armazenamento e Transporte do CEP

Após o término da coleta o CEP foi armazenado em um freezer com temperatura de -70°C e transportado resfriado até o local de análise.

3.3.11 Desinfecção do aparato de coleta

Por ser um dispositivo reutilizável o aparato de coleta foi encaminhado à Central de Materiais do Hospital das Clínicas FMRP/USP para limpeza e esterilização para evitar contaminação cruzada entre os pacientes.

As peças constituídas por material plástico, silicone e teflon foram submetidas à termodesinfecção (50°C) com uso de detergente desincrustante de acordo com as tarefas realizadas na rotina deste setor. Terminado este procedimento as peças foram novamente enxaguadas em água e secas. As peças foram acondicionadas em saco plástico lacrado até a utilização.

O tubo de vidro em “U” foi lavado em água corrente com detergente desincrustante seguida por lavagem em água destilada, deionizada e ultrafiltrada (Milli-q). Após estes procedimentos o tubo foi encaminhado à Central de Materiais do HC- FMRP/USP para esterilização na Autoclave HI VAC (Baumer AS, Mogi-Mirim, São Paulo, Brasil) a uma temperatura de aproximadamente 130°C por 45 minutos. Posteriormente foi acondicionado em tecido de algodão ou em tecido SMS constituído de propileno 100%.

3.3.12 Mensuração do nitrito/nitrato no CEP e no plasma

A técnica de análise utilizada neste estudo foi a quimioluminescência. A técnica de quimioluminescência é baseada na mensuração da intensidade da radiação fluorescente emitida após a oxidação química do NO pelo ozônio usando um tubo sensível fotomultiplicador. O produto desta reação é o (NO_2^*) emitido como um fóton, sendo que o

número total de fótons emitidos é proporcional à concentração do NO (ARCHER, 1993). Essa reação pode ser na Figura 11:

Figura 11: reação do NO com o ozônio.

A análise foi realizada no aparelho Nitric Oxide Analyzer, 280i NOA (Sievers, Boulder, CO, EUA), do Laboratório de Função Endotelial, do departamento de Cirurgia e Anatomia (Figura 12).

Figura 12: Analisador de nitrito/nitrato Sievers 280i NOA (Sievers, Boulder, CO, EUA).

Para a análise o primeiro passo foi desproteinização da amostra por incubação com etanol absoluto (4°C); posteriormente, foram mantidas por 30 minutos em freezer (-20°C); e em seguida, centrifugadas a 4000 rotações por minuto (RPM) por 10 minutos em centrífuga refrigerada (Eppendorf Centrifuge 5810R, Hamburg, Alemanha).

Das amostras desproteinizadas, utilizou-se o volume de 5 microlitros (μl), que foi injetado na câmara de reação do analisador contendo um agente redutor (0,8% de cloreto de vanádio em 1N de ácido clorídrico à 95°C) que converteu o $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ em NO, em quantidades equimolares. O NO foi sugado para a câmara de quimioluminescência do analisador e reagiu com o ozônio (O_3), formando dióxido de nitrogênio (NO_2^-). O NO_2^- apresentou-se numa forma instável e tem a capacidade de emitir fótons que se chocam contra uma superfície foto-sensível de uma célula fotomultiplicadora. O fóton emitido pela reação foi detectado e convertido em sinal elétrico. A corrente de elétrons foi captada, amplificada e processada por um transdutor analógico-digital, dando origem a um traçado gráfico, em que a

área sob a curva gerada pela corrente elétrica corresponde à concentração de NOx na amostra. A concentração de NOx foi calculada por comparação com uma curva padrão usando concentrações conhecidas de nitrato de sódio expressos em micromolar (μM): 5 μM , 10 μM , 15 μM , 25 μM , 50 μM e 100 μM .

Todo material utilizado nesta técnica foi enxaguado com água MilliQ, livre de contaminantes. As análises foram realizadas por pessoal especializado e capacitado, que compõem o quadro de funcionários do Laboratório de Função Endotelial da FMRP-USP, do Departamento de Cirurgia e Anatomia.

4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados sofreram análise para obterem-se medidas de distribuição, tendência central e dispersão (normalidade, médias e medianas, desvio-padrão, etc) e proporções para as variáveis categóricas. Foram comparadas as características clínicas entre os grupos (coronarianos versus valvopatas) utilizando-se teste “T” não pareado, ou seu equivalente não paramétrico, ou teste de Chi-quadrado ou Exato de Fisher para as variáveis categóricas. Quanto ao nitrito/nitrato do CEP e no plasma sanguíneo, foi feita a análise intra-grupos (diferentes períodos de coleta no mesmo indivíduo) e inter-grupos (coronarianos versus valvopatas) utilizando-se método de análise de variância para medidas repetidas (“Two-Way ANOVA”). Foi utilizado o software Statistical Package of the Social Sciences (SPSS) 16.0.

5 RESULTADOS

5.1 PACIENTES

5.1.1 Pacientes selecionados para o estudo

Foram selecionados para o estudo 73 pacientes mediante avaliação dos pesquisadores. Destes, 19 foram excluídos e não realizaram as coletas estipuladas por algum dos seguintes motivos: apresentaram problemas respiratórios no período pré-operatório (gripe, bronquite, etc), realizaram cirurgia cardíaca associada, alteração de data de cirurgia, parada cardiorrespiratória durante a cirurgia e/ou pneumotórax no período pós-operatório. Desta maneira, 54 pacientes completaram as coletas, sendo que 16 (30%) foram submetidos à cirurgia de revascularização do miocárdio (CR) e 38 (70%) à cirurgia de valva isolada aórtica ou mitral (CVI).

5.1.2 Características dos pacientes operados

As tabelas 1, 2 e 3 a seguir mostram as características clínicas, operatórias e evolução do pós-operatório, respectivamente dos 54 pacientes operados.

Tabela 1: Características Clínicas dos 54 pacientes operados.

	Todos				CR				CVI			
	<i>n</i>	%	<i>Média</i>	<i>DP</i>	<i>n</i>	%	<i>Média</i>	<i>DP</i>	<i>n</i>	%	<i>Média</i>	<i>DP</i>
Sexo feminino	22	40,7%			5	31,3%			17	44,7%		
Sexo masculino	32	59,3%			11	68,8%			21	55,3%		
Idade			59	13			63	6			57	15
IMC			28,5	6,1			29,3	7,0			28,1	5,7
NYHA 3 ou 4	15	27,8%			2	12,5%			13	34,2%		
FE			0,57	0,13			0,56	0,14			0,58	0,12
FA crônica	14	25,9%			0	0%			14	36,8%		
Diabetes	13	24,1%			6	37,5%			7	18,4%		
OC	0	0%			0	0%			0	0%		
DPOC	0	0%			0	0%			0	0%		
AVC	3	5,6%			0	0%			3	7,9%		
DVP	0	0%			0	0%			0	0%		
CR elevada	3	5,6%			1	6,3%			2	5,3%		
HAS	38	70,4%			15	93,8%			23	60,5%		
TBG	3	5,6%			1	6,3%			2	5,3%		
IAM prévio	6	11,1%			4	25,0%			2	5,3%		
PSAP>40 mmHg	4	7,4%			0	0%			4	10,5%		
Nitrato VO pré-op	14	25,9%			10	62,5%			4	10,5%		
IECA VO pré-op	23	42,6%			8	50,0%			15	39,5%		

Definição das abreviaturas da Tabela 1: cirurgia de revascularização (CR), cirurgia valvar isolada (CVI), desvio padrão (DP), índice de massa corpórea (IMC), classificação New York Heart Association 3 ou 4 (NYHA 3 ou 4), fração de Ejeção (FE), fibrilação atrial (FA), obstrução da carótida (OC), doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), acidente vascular cerebral (AVC), doença vascular periférica (DVP), creatinina (CR), infarto agudo do miocárdio (IAM), pressão sistólica da artéria pulmonar (PSAP), via oral (VO), pré-operatório (pré-op), inibidor da enzima conversora da angiotensina (IECA)- utilização de Enalapril ou Captopril, Nitrato – utilização de dinitrato de isossorbida.

Tabela 2: Características operatórias dos 54 pacientes operados.

	Todos				CR				CVI			
	<i>n</i>	%	<i>Média</i>	<i>DP</i>	<i>n</i>	%	<i>Média</i>	<i>DP</i>	<i>n</i>	%	<i>Média</i>	<i>DP</i>
Cirurgia sem CEC	4	7,4%			4	25,0%			0	0%		
Cirurgia com CEC	50	92,6%			12	75,0%			38	100,0%		
Pinç. Ao (min)			65	43			41	26			74	44
CEC (min)			95	60			62	42			109	61
<i>Anastomose distais</i>			1	1			3	1			0	0
Safena	12	22,2%			12	75,0%			0	0%		
Mamária Esquerda	15	27,8%			15	93,8%			0	0%		
<i>Valva Substituída</i>												
Nenhuma	19	35,2%			16	100,0%			3	7,9%		
Mitral												
Aórtica	17	31,5%			0	0%			17	44,7%		
Mitral e Aórtica	16	29,6%			0	0%			16	42,1%		
Tricúspide	1	1,9%			0	0%			1	2,6%		
	1	1,9%			0	0%			1	2,6%		
<i>Valva Reparada</i>												
Nenhuma	50	92,6%			16	100,0%			34	89,5%		
Mitral	2	3,7%			0	0%			2	5,3%		
Aórtica	0	,0%			0	0%			0	0%		
Tricúspide	2	3,7%			0	0%			2	5,3%		

Definição das abreviaturas da Tabela 2: cirurgia de revascularização (CR), cirurgia valvar isolada (CVI), número de pacientes (n), desvio padrão (DP), circulação extracorpórea (CEC), Tempo de Pinçamento aórtico (pinç. Ao), minutos (min).

Tabela 3: Evolução clínica no pós-operatório dos 54 pacientes operados.

	Todos		CR		CVI	
	<i>N</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
NTG EV pós-op	11	20,4%	9	56,3%	2	5,3%
NPS EV pós-op	15	27,8%	2	12,5%	13	34,2%
Sangramento pós-op	1	1,9%	0	0%	1	2,6%
VMI > 12h	4	7,4%	0	0%	4	10,5%
Pneumonia	3	5,6%	0	0%	3	7,9%
Mediastinite	1	1,9%	0	0%	1	2,7%
Utilização de inotrópicos	8	14,8%	0	0%	8	21,1%
Falência cardíaca	5	9,3%	1	6,3%	4	10,5%
AVC pós-op	0	0%	0	0%	0	0%
Infarto pós-op	2	3,7%	1	6,3%	1	2,6%
Disfunção renal pós-op	6	11,1%	1	6,3%	5	13,2%
Óbito	5	9,3%	0	0%	5	13,2%
	<i>Média</i>	<i>DP</i>	<i>Média</i>	<i>DP</i>	<i>Média</i>	<i>DP</i>
Tempo de VMI	10	10±5	9	9±3	10	10±6

Definição das abreviaturas da tabela 3: cirurgia de revascularização (CR), cirurgia valvar isolada (CVI), número de pacientes (n), desvio padrão (DP), nitroglicerina (NTG), nitroprussiato de sódio (NPS), via endovenosa (EV), pós-operatório (pós-op), ventilação mecânica invasiva (VMI), acidente vascular cerebral (AVC).

5.2 ANÁLISE DO NITRITO/NITRATO NO CEP E PLASMA DOS PACIENTES OPERADOS NO PERÍODO PRÉ-OPERATÓRIO

Analizando as concentrações de nitrito/nitrato do CEP e do plasma no período pré-operatório de todos os pacientes operados não foi encontrada diferença significativa entre os pacientes submetidos a CR e CVI ($p>0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4: Comparação das concentrações de nitrito/nitrato do CEP e do plasma no período pré-operatório.

	Todos			CR			CVI			<i>p</i>
	<i>Média</i>	<i>DP</i>	<i>N</i>	<i>Média</i>	<i>DP</i>	<i>n</i>	<i>Média</i>	<i>DP</i>	<i>n</i>	
CEP pré-op	13,1	10,8	54	12,3	10,3	16	13,4	11,1	38	0,776
Plasma pré-op	51,0	27,9	54	59,2	38,9	16	47,5	21,3	38	0,344

Definição das abreviaturas da tabela 4: cirurgia de revascularização (CR), cirurgia valvar isolada (CVI), número de pacientes (n), desvio padrão (DP), condensado do exalado pulmonar (CEP), pós-operatório (pós-op).

Quando levada em consideração as medicações utilizadas por via oral contendo nitrato (dinitrato de isossorbida) ou IECA (captopril ou enalapril) na análise das concentrações de nitrito/nitrato do CEP no período pré-operatório foram observadas concentrações significativamente maiores ($p=0,017$) em pacientes que utilizaram nitrato quando comparados aos que não utilizaram nenhum tipo de medicação contendo IECA ou nitrato. Quando agrupados os pacientes que receberam simultaneamente medicação contendo nitrato ou IECA esta diferença significativa não é mais observada quando comparados aos pacientes que não utilizaram nenhum tipo de medicação contendo IECA ou nitrato ($p=0,982$). Análise do plasma nas duas situações citadas acima não demonstrou diferenças significativas nas concentrações de nitrito/nitrato ($p > 0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5: Análise do nitrito/nitrato do CEP e plasma conforme tipo de medicação recebida no período pré-operatório.

	Sem IECA ou Nitrato (n=24)	IECA isolada (n=16)		Nitrato isolado (n=7)		IECA e Nitrato (n=7)	
	<i>Média/DP</i>	<i>Média/DP</i>	<i>p</i>	<i>Média/DP</i>	<i>p</i>	<i>Média/DP</i>	<i>p</i>
CEP pré-op	10,8±9,1	13,0±7,4	0,176	24,5±18,7	0,017	9,4±6,1	0,982
Plasma pré-op	46,4±25,1	51,4±19,1	0,334	48,1±20,9	0,659	68,9±51,1	0,139

Definição das abreviaturas da Tabela 5: inibidor da enzima conversora da angiotensina (IECA)- utilização de Enalapril ou Captopril, Nitrato – utilização de dinitrato de isossorbida, número de pacientes (n) pré-operatório (pré-op), condensado do exalado pulmonar (CEP), desvio-padrão (DP).

5.3 ANÁLISE DO NITRITO/NITRATO NO CEP E NO PLASMA DOS PACIENTES SUBMETIDOS A CR E CVI NO PRÉ-OPERATÓRIO E PÓS-OPERATÓRIO

5.3.1 Pacientes incluídos na análise do nitrito/nitrato no CEP e no plasma nos períodos pré-operatório e pós-operatório

Os resultados obtidos com as análises no item 5.2 mostraram que as concentrações de nitrito/nitrato no CEP foram significativamente maiores nos pacientes que utilizam nitrato (dinitrato de isossorbida) por via oral no período pré-operatório. Não foi possível saber com segurança, se a IECA, ou mesmo o nitrato, ou a associação de ambos no pré-operatório, afetam as concentrações de nitrito/nitrato no CEP e/ou plasma no pós-operatório, sobretudo se considerarmos a associação com nitratos intravenosos (nitroglicerina ou nitroprussiato de sódio) no pós-operatório. Assim, seria necessária uma análise com as diversas combinações de nitrato e IECA utilizadas no pré-operatório com as utilizadas no pós-operatório. Todavia, o número de pacientes em cada combinação seria muito pequeno para permitir testes com poder estatístico satisfatório conforme mostrado na Tabela 6.

Tabela 6: Proporção de pacientes que receberam associações ou não de IECA e/ou nitratos no período pré-operatório e nitratos por via endovenosa (NTG e NPS) no período pós-operatório.

	Medicações utilizadas no pré-operatório							
	Nenhuma		Apenas IECA VO		Apenas nitrato VO		IECA e Nitrato VO	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
<i>Nitratos EV pós-op</i>								
Nenhum	12	57,1%	8	61,5%	3	50,0%	3	50,0%
NTG	2	9,5%	2	15,4%	1	16,7%	3	50,0%
NPS	7	33,3%	3	23,1%	2	33,3%	0	0%

Definição das abreviaturas da Tabela 6: inibidor da enzima conversora da angiotensina (IECA)- utilização de Enalapril ou Captopril, Nitrato – utilização de dinitrato de isossorbida, número de pacientes (n) pós-operatório (prós-op), nitroglicerina (NTG), nitroprussiato de sódio (NPS), via endovenosa (EV).

Assim, decidimos eliminar das análises de nitrito/nitrato no CEP e plasma no período pós-operatório todos os pacientes que receberam nitrato e/ou IECA no período pré-operatório (25 pacientes), nos concentrando apenas na influência da nitroglicerina (NTG) e do nitroprussiato de sódio (NPS) administradas por via endovenosa (EV) nas concentrações de

nitrito/nitrato no CEP e plasma. Também foram excluídos das análises do período pós-operatório todos os pacientes operados sem CEC (4 pacientes) e os que apresentaram complicações respiratórias no pós-operatório (4 pacientes).

Então, foram incluídos na análise do CEP e plasma do período pré e pós-operatório 21 pacientes, sendo 3 submetidos a CR e 18 submetidos a CVI. As tabelas 7, 8 e 9 mostram as características clínicas, operatórias e a evolução do pós-operatório destes 21 pacientes.

Tabela 7: Características Clínicas dos pacientes incluídos na análise das concentrações de nitrito/nitrato no CEP e plasma dos períodos pré e pós-operatório.

	Pacientes sem Nitrato ou IECA pré-op	
	<i>n</i>	<i>Média/DP</i>
Idade		56±16
Peso		69,53±15,82
Altura m		1,61±0,08
IMC		28,0±6,3
FE		0,59±0,14
	<i>n</i>	%
Sexo feminino	9	42,9%
Sexo masculino	12	57,1%
NYHA Classe I	8	38,1%
NYHA Classe II	6	28,6%
NYHA Classe III	7	33,3%
NYHA Classe IV	0	0%
FA crônica	6	28,6%
Lesão TCE > 50%	0	0%
Diabetes	1	4,8%
OC	0	0%
DPOC	0	0%
DVP	0	0%
Disfunção Renal	1	4,8%
HAS	10	47,6%
TBG	1	4,8%
PSAP > 40 mmgh	1	4,8%
Cirurgia de Revascularização	3	14,3%
Cirurgia valvar	18	85,7%
Operação prévia	3	14,3%

Definição das abreviaturas da Tabela 7: índice de massa corpórea (IMC), fração de ejeção (FE), classificação da New York Heart Association (NYHA), fibrilação atrial (FA), tronco da coronária esquerda (TCE) obstrução da carótida (OC), doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), doença vascular periférica (DVP), pressão sistólica da artéria pulmonar (PSAP).

Tabela 8: Características Operatórias dos pacientes incluídos na análise das concentrações de nitrito/nitrato no CEP e plasma dos períodos pré e pós-operatório.

		CR E CVI		
		Média/DP	n	%
Tempo de pinçamento Ao (min)		63±28		
CEC (min)		101±45		
Plastia Valvar			2	9,5%
Troca Valvar			17	81,0%
Tipo de prótese	Mecânica		14	66,7%
	Biológica		3	14,3%
Valva Substituída	Mitral		10	47,6%
	Aórtica		7	33,3%
Valva reparada	Mitral		1	4,8%
Anastomoses distais		3,3±1,5		

Definição das abreviaturas da Tabela 8: desvio padrão (DP), cirurgia de revascularização (CR), cirurgia valvar isolada (CVI), número de pacientes (n), circulação extracorpórea (CEC), Tempo de Pinçamento aórtico (pinçamento Ao), minutos (min).

Tabela 9: Evolução do pós-operatório dos pacientes incluídos na análise das concentrações de nitrito/nitrato no CEP e plasma dos períodos pré e pós-operatório.

		CR E CVI		
		Média/DP	n	%
Tempo VMI		8,8±4		
Reoperação por sangramento			1	4,8%
Entubação Prolongada?			0	0%
Pneumonia			0	0%
Mediastinite (após 72h PO)			1	4,8%
Utilização de Inotrópicos			1	4,8%
Falência Cardíaca			2	9,5%
AVC pós-op			0	0%
IAM pós-op			1	4,8%
Disfunção renal aguda pós-op			1	4,8%
Diálise			0	0%
Óbito			1	4,8%

Definição das abreviaturas da tabela 9: cirurgia de revascularização (CR), cirurgia valvar isolada (CVI), número de pacientes (n), desvio padrão (DP), ventilação mecânica invasiva (VMI), acidente vascular cerebral (AVC), infarto agudo do miocárdio (IAM), pós-operatório (pós-op).

Não foram encontradas diferenças significativas entre as concentrações de nitrito/nitrato no CEP e plasma dos pacientes que não receberam nitrato e IECA no período pré-operatório ($p>0,05$). Também não foram encontradas diferenças significativas entre as características clínicas e cirúrgicas das variáveis mostradas na Tabela 10.

Tabela 10: Comparação CR *versus* CVI das características operatórias, clínicas e concentrações de nitrito/nitrato no CEP do período pré-operatório.

	Todos		CR (n=3)		CVI (n=18)		<i>p</i>
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	CR versus CVI
Idade	56	16	59	4	55	18	0,880
CEP pré-op	11,0	9,5	4,5	2,6	12,1	9,9	0,132
Plasma pré-op	47,5	26,3	59,3	42,2	45,5	24,0	0,615
Peso (Kg)	69,53	15,82	83,27	20,89	67,24	14,29	0,159
IMC	28,0	6,3	34,3	11,5	26,7	4,8	0,197
FE	0,59	0,14	0,59	0,03	0,58	0,15	0,958
Pinçamento Ao(min)	63	28	57	6	65	30	0,481
CEC(min)	101	45	103	40	100	47	0,761

Definição das abreviaturas da tabela 10: cirurgia de revascularização (CR), cirurgia valvar isolada (CVI), número de pacientes (n), desvio padrão (DP), condensado do exalado pulmonar (CEP), índice de massa corpórea (IMC), fração de ejeção (FE), Tempo de Pinçamento aórtico (Pinçamento Ao), Tempo de CEC (CEC), minutos (min), quilograma (Kg).

5.3.2 Análise dos períodos pré e pós-operatórios dos pacientes submetidos a CR e CVI

Como não foram encontradas diferenças significativas na análise das características clínicas e operatórias e nas concentrações de nitrito/nitrato no CEP e plasma dos pacientes submetidos a CR e CVI que não receberam medicação contendo nitrato e IECA no período pré-operatório os mesmos serão analisados em conjunto nos itens subsequentes. A tabela 11 mostra a média e o desvio padrão encontradas para estes pacientes nos períodos pré-operatório e 4, 12, 24, 48 e 72 horas do pós-operatório.

Tabela 11: Média e Desvio Padrão dos pacientes submetidos a CR e CVI no período pré-operatório e 4, 12, 24, 48 e 72 horas do pós-operatório.

	CR e CVI (Todos)	
	Média (μM)	DP (μM)
CEP pré-op	11,0	9,5
CEP 4hs pós-op	13,6	15,3
CEP 12hs pós-op	31,8	70,1
CEP 24hs pós-op	13,9	15,2
CEP 48hs pós-op	12	10
CEP 72hs pós-op	24	41
Plasma pré-op	47,5	26,3
Plasma 4hs pós-op	32,6	12,2
Plasma 12hs pós-op	32,7	19,3
Plasma 24hs pós-op	42	22
Plasma 48hs pós-op	42	15
Plasma 72hs pós-op	33	14

Definição das abreviaturas da tabela 11: desvio padrão (DP), condensado do exalado pulmonar (CEP), pré-operatório (pré-op), pós-operatório (pós-op).

5.3.3 Análise do nitrito/nitrato no CEP do período pré-operatório *versus* pós-operatório

5.3.3.1 Análise Intra-grupos do nitrito/nitrato do CEP dos pacientes submetidos a CR e CVI no período pré-operatório *versus* 4 hs PO, 12 hs PO, 24 hs PO, 48 hs PO e 72 hs P que não utilizaram NTG e NPS no pós-operatório .

Observou-se uma tendência a elevação das concentrações de nitrito/nitrato no CEP no período pós-operatório comparado ao período pré-operatório que só mostrou elevação numericamente significativa no período 48 hs PO ($p=0,008$) de todos os pacientes submetidos a CR e CVI que não utilizaram nitrato e IECA via oral no período pré-operatório e não utilizaram NTG e NPS no período pós-operatório (Figura 13).

Intra-grupos:

4h vs. pré-op	p=0,285
12h vs. pré-op	p=0,192
24h vs pré-op	p=0,246
48h vs. pré-op	p=0,008 *
72h vs. pré-op	p=0,161

Figura 13: Nitrito/nitrato do CEP dos pacientes dos pacientes submetidos CR e CVI do período pré-operatório *versus* 4 hs PO, 12 hs PO, 24 hs PO, 48 hs PO e 72 hs PO que não utilizaram nitrato e IECA no período pré-operatório e NTG e NPS no período pós-operatório.

5.3.3.2 Análise do Nitrito/nitrato no CEP de pacientes submetidos a CR e CVI que utilizaram NTG EV e NPS EV no pós-operatório *versus* pacientes submetidos a CR e CVI que não utilizaram NTG EV e NPS EV no pós-operatório

Não houve diferença significativa quando comparados os pacientes submetidos a CR e CVI que utilizaram NTG EV e NPS EV no pós-operatório *versus* pacientes submetidos a CR e CVI que não utilizaram NTG EV e NPS EV no pós-operatório (p valor inter-grupos = 0,655). Quando avaliados intra-grupos observou-se elevação significativa das concentrações de nitrito/nitrato em pacientes submetidos a CR e CVI que utilizaram ou não doadores de NO EV nos períodos 48 hs PO (p=0,005) e 72 hs PO (p=0,037) em comparação ao período pré-operatório (Figura 14).

Inter-grupos: p=0,655

Intra-grupos:

4h vs. pré-op p=0,273

12h vs. pré-op p=0,079

24h vs pré-op p=0,086

48h vs. pré-op p=0,005

72h vs. pré-op p=0,037

Figura 14: Nitrito/nitrato no CEP de pacientes submetidos a CR e CVI que utilizaram NTG EV e NPS EV no pós-operatório *versus* pacientes submetidos a CR e CVI que não utilizaram NTG EV e NPS EV no pós-operatório.

5.3.3.3 Análise do nitrito/nitrato no CEP de pacientes submetidos a CR e CVI: comparação entre a utilização EV da NTG, NPS ou nenhuma medicação EV

Não foi observada diferença significativa quando realizada análise inter-grupos quanto a utilização EV da NTG, NPS ou nenhuma medicação EV ($p=0,336$). Quando realizada análise intra-grupos nos pacientes que receberam NPS ou nenhuma droga, não ocorreu variação significativa nos valores de nitrito/nitrato do pós-operatório em comparação ao pré-operatório. Um aumento significativo nos valores de nitrito/nitrato nos períodos 12 hs PO, 48 hs PO e 72 hs PO ($p<0,05$) foi observado apenas nos pacientes que utilizaram NTG, embora o número de pacientes seja de apenas 2 (Figura 15).

Inter-grupos: $p=0,336$

Intra-grupos:

4h vs. pré-op	$p=0,427$
12h vs. pré-op	$p=0,022^*$
24h vs. pré-op	$p=0,106$
48h vs. pré-op	$p=0,015^*$
72h vs. pré-op	$p=0,048^*$

Figura 15: Nitrito/nitrato no CEP de pacientes submetidos a CR e CVI: comparação entre a utilização EV da NTG, NPS ou nenhuma medicação EV.

5.3.4 Análise do nitrito/nitrato no plasma do período pré-operatório *versus* pós-operatório

5.3.4.1 Análise Intra-grupos do nitrito/nitrato do plasma dos pacientes submetidos CR e CVI do período pré-operatório *versus* 4 hs PO, 12 hs PO, 24 hs PO, 48 hs PO e 72 hs PO que não receberam NTG e NPS EV no período pós-operatório.

Embora tenha ocorrido uma variação significativa nos valores, ou seja, a evolução não tendeu a uma reta, não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações de nitrito/nitrato comparando os períodos 4 hs PO, 12 hs PO, 24 hs PO, 48 hs PO e 72 hs PO com o pré-operatório ($p>0,05$) de todos os pacientes submetidos a CR e CVI (Figura 16).

4h vs. pré-op	p=0,441
12h vs. pré-op	p=0,144
24h vs pré-op	p=0,541
48h vs. pré-op	p=0,675
72h vs. pré-op	p=0,222

Figura 16: Nitrito/nitrato do plasma dos pacientes submetidos a CR e CVI do período pré-operatório *versus* 4 hs PO, 12 hs PO, 24 hs PO, 48 hs PO e 72 hs PO.

5.3.4.2 Análise do nitrito/nitrato no plasma de pacientes submetidos a CR e CVI que utilizaram NTG e NPS EV no pós-operatório *versus* pacientes submetidos a CR e CVI que não utilizaram NTG e NPS e.v no pós-operatório

Na análise inter-grupos do nitrito/nitrato no plasma de pacientes submetidos a CR e CVI que utilizaram NTG e NPS EV no pós-operatório *versus* pacientes submetidos a CR e CVI que não utilizaram NTG e NPS EV no pós-operatório não houve diferença significativa ($p=0,642$). Quando realizada a análise intra-grupos observou-se uma queda significativa e semelhante nas concentrações de nitrito/nitrato do plasma dos pacientes submetidos à CR e CVI que utilizaram ou não NTG e NPS EV no pós-operatório no período de 4 hs PO quando comparado ao período pré-operatório ($p=0,045$) (Figura 17).

Inter-grupos: $p=0,642$

Intra-grupos:

4h vs. pré-op	$p=0,045^*$
12h vs. pré-op	$p=0,102$
24h vs pré-op	$p=0,694$
48h vs. pré-op	$p=0,980$
72h vs. pré-op	$p=0,119$

Figura 17: Nitrito/nitrato no plasma de pacientes submetidos a CR e CVI que utilizaram NTG e NPS EV no pós-operatório *versus* Pacientes submetidos a CR e CVI que não utilizaram NTG e NPS e.v no pós-operatório.

5.3.4.3 Análise do nitrito/nitrato no plasma de pacientes submetidos a CR e CVI. Comparação entre a utilização endovenosa da NTG, NPS ou nenhuma medicação

Na análise inter-grupos do nitrito/nitrato no plasma de pacientes submetidos a CR e CVI comparando-se a utilização endovenosa da NTG, NPS ou nenhuma medicação não foi encontrada diferença significativa ($p=0,586$). Quando realizada a análise intra-grupos não foi encontrada diferença significativa dos valores de nitrito/nitrato no CEP dos pacientes que utilizaram NTG, NPS ou nenhuma medicação no período pós-operatório. No entanto, o asterisco no período de 12 hs PO (*) na curva da NTG indica interação ($p=0,045$), ou seja, sem diferença na média, mas diferença significativa na direção da curva. Neste caso as curvas não são paralelas, pois a NTG tende a elevar os valores de 12 hs PO em relação ao pré-operatório (Figura 18).

Inter-grupos: $p=0,586$

Intra-grupos:

4h vs. pré-op	$p=0,203$
12h vs. pré-op	$p=0,650$
24h vs. pré-op	$p=0,729$
48h vs. pré-op	$p=0,696$
72h vs. pré-op	$p=0,349$

Figura 18: Nitrito/nitrato no plasma de pacientes submetidos a CR e CVI. Comparação entre a utilização endovenosa da NTG, NPS ou nenhuma medicação.

6 DISCUSSÃO

Neste estudo, o aparato utilizado para coleta do CEP foi capaz de prover os níveis de nitrito/nitrato dos grupos de pacientes estudados (coronariopatas e valvopatas). Foi possível utilizar o aparato na rotina clínica do pré-operatório e pós-operatório para coleta do CEP nos períodos estipulados, inclusive durante a ventilação mecânica.

Na literatura atual existem muitos estudos a respeito dos níveis de NO no ar exalado (fase gasosa) relacionados aos processos que envolvem a rotina da cirurgia cardíaca. No entanto, existem poucos estudos relativos às concentrações de nitrito/nitrato no CEP e o procedimento cirúrgico em questão, e por isso, muitos dos estudos apresentados nesta discussão irão se referir ao NO no ar exalado. É importante lembrar que além do nitrito/nitrato o CEP ainda pode prover informações de outros mediadores encontrados no ar condensado exalado relacionados à inflamação (leucotrienos, citocinas, prostaglandinas, íons de hidrogênio entre outros), ao estresse oxidativo (peróxido de hidrogênio, 8-isoprostano, entre outros) e ao estresse nitrosativo (nitrosina, nitrosotíols, entre outros) (HOFFMEYER, RAULF-HEIMSOTH & BRÜNING, 2009).

A análise das características clínicas e operatórias dos pacientes estudados não mostrou diferenças significativas ($p>0,05$). Vento, Arcêncio & Rodrigues (2012) utilizando o mesmo aparato de coleta do CEP utilizado no presente estudo não encontrou correlação das concentrações de nitrito/nitrato com a idade e o sexo em pacientes saudáveis.

No presente estudo, não observamos diferenças significativas nas concentrações de nitrito/nitrato no CEP e plasma comparando os pacientes coronariopatas e valvopatas no período pré-operatório independente do tipo de medicação recebida neste período ($p>0,05$). Mas, quando levada em consideração as medicações recebidas no período pré-operatório contendo IECA (captopril e enalapril) e nitrato (dinitrato de isossorbida), concentrações significativamente maiores de nitrito/nitrato no CEP foram observadas em pacientes que receberam medicação contendo nitrato (dinitrato de isossorbida) no período pré-operatório ($p=0,017$). Com relação à mesma análise realizada no plasma não houve diferenças significativas ($p>0,05$). Não foram encontrados na literatura dados relacionando a utilização de nitrato por via oral e avaliação do NO no ar exalado ou no CEP. Encontramos somente dados na literatura a respeito da utilização de IECA relacionada aos níveis de NO no ar exalado. Sumino et al (2000), encontraram concentrações maiores de NO no ar exalado em indivíduos normais 4 horas após a ingestão oral de Enalapril (IECA). Oito horas após a ingestão este aumento significativo não foi mais observado. Em pacientes portadores de

hipertensão arterial este aumento nos níveis de NO no ar exalado após a ingestão oral de Enalapril não foi observado. Já Domnez et al (2002), após 9 semanas de tratamento com Losartana (IECA) e Enalapril observaram aumento nos níveis de NO exalado em pacientes portadores de HAS. Mas este aumento observado foi significativamente menor em voluntários com HAS quando comparado a voluntários clinicamente saudáveis. No presente estudo, em pacientes que receberam ou não nitrato ou IECA por via oral no período pré-operatório, não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações de nitrito/nitrato no plasma. Sumino et al (2000) não relataram aumento nas concentrações séricas do NO após o uso de Enalapril. Domnez et al (2002) observaram níveis maiores de NOx no plasma após 9 semanas de tratamento com Enalapril e Losartana em pacientes portadores de HAS relatando que este aumento do NO plasmático pode ajudar a restaurar as funções endoteliais. Os pacientes participantes do presente estudo utilizaram as medicações relatadas (nitrato e IECA) por via oral no período pré-operatório a critério médico e na maioria das vezes já faziam uso das mesmas no período pré-internação. Por isso não foi possível relatar a dose dependência e o tempo de utilização destas medicações.

Na análise do período pós-operatório do CEP e do plasma do presente estudo foram excluídos os pacientes que utilizaram medicação contendo IECA e nitrato, uma vez que foi observado um aumento significativo ($p=0,017$) nas concentrações nitrito/nitrato no CEP de pacientes que utilizaram medicação contendo nitrato no pré-operatório e, pelo fato de que estudos têm apontado alterações no NO exalado em pacientes que utilizaram medicação contendo IECA (SUMINO et al, 2000; DOMNEZ et al 2000). Outro motivo para a exclusão é que não podemos afirmar com segurança que as medicações contendo IECA ou nitrato utilizados no período pré-operatório não irão interferir nos valores de nitrito/nitrato do CEP e plasma no período pós-operatório, sobretudo se associadas a medicações administradas por via endovenosa contendo doador de NO (NTG e NPS) no período pós-operatório. Por estes motivos as análises do pós-operatório se direcionaram apenas na influência da administração de doadores de NO (NTG e NPS) por via endovenosa.

Em todos os pacientes incluídos para análise do período pós-operatório (4hs PO, 12 hs PO, 24 hs PO, 48 hs PO e 72 hs) que não utilizaram medicação doador de NO (NTG e NPS) no período pós-operatório, foi observada uma tendência a elevação progressiva das concentrações de nitrito/nitrato no CEP sendo esta elevação significativamente maior somente no período 48 hs PO quando comparado ao período pré-operatório. Sabe-se que o NO exalado basal (sem interferência de doadores de NO) pode refletir o epitélio da via aérea com pequena contribuição do endotélio vascular em condições normais (SARTORI et al,

1999) mas, os procedimentos utilizados durante a cirurgia cardíaca desde a intubação até a ventilação mecânica e a CEC podem produzir lesão do epitélio da via aérea além de disfunção pulmonar que muitas vezes pode não causar alterações ou prejuízos a evolução clínica do paciente. No entanto, estes processos podem gerar processos inflamatórios sistêmicos e na via aérea (MIYAJI, BUSCATI, RODRIGUEZ e col, 2004; MOURA, POMERANTZEFF e GOMES, 2001). No presente estudo, a primeira coleta do pós-operatório foi realizada a partir de 4 horas após a CEC com o paciente já na unidade de recuperação do pós-operatório e a tendência à elevação das concentrações de nitrito/nitrato nestes períodos pode estar associada aos processos inflamatórios ocasionados pela CEC onde há participação do NO na via aérea. Moloney et al (2004) observaram alterações (elevação) de outros marcadores inflamatórios no CEP após a cirurgia cardíaca que não causaram disfunção pulmonar clinicamente nos pacientes estudados. Já Augusto et al (2011), analisando o CEP observaram menores concentrações de nitrito 24 horas após a CEC em pacientes submetidos à cirurgia valvar em ventilação espontânea.

Alguns estudos encontrados na literatura não têm observado diferenças no NO exalado basal (sem utilização de medicação) comparando os períodos pré e pós-operatório (MALMSTRÖM ET AL, 2003; KÖVESI ET AL, 2003). Outros, como o de Ishibe et al (2000) observaram uma redução no NO exalado no período pós-operatório imediato e um aumento do NO exalado somente com a recuperação das trocas gasosas pulmonares 16 horas após a CRVM. Da mesma maneira que no presente estudo Ishibe et al (2000) também não interferiram na administração de doadores de NO aos pacientes na rotina cirúrgica e do pós-operatório mas, não levaram em consideração a utilização destas drogas na realização da análise. A recuperação da função pulmonar não foi avaliada no presente estudo, mas pacientes que evoluíram com complicações respiratórias foram excluídos previamente desta análise. Alguns estudos que apontaram a redução do ar exalado realizaram a coleta pouco tempo após o término da CEC (ISHIBE ET AL, 2000; BEGHETTI ET AL 1998; AMORIM ET AL, 2009) e na avaliação destes dados encontrados é importante levar em consideração que o oxigênio é fonte molecular para a produção do NO (LEONE et al, 1991) e tem sido relatada grande diminuição do NO no ar exalado em situação hipóxicas que podem ser causadas pela isquemia (PER AGVALD ET AL, 2001). A principal limitação da maioria dos estudos encontrados relacionando o NO no ar exalado com a cirurgia cardíaca foram as coletas realizadas poucas horas após a CEC, geralmente com o paciente sob ventilação mecânica. Nestes estudos este fato pode ter prejudicado o seguimento para acompanhar a reversão da

disfunção endotelial após a cirurgia cardíaca (TÖRNBERG ET AL, 2005) que geralmente é observada a partir de 8 horas do pós-operatório (ANGDINM & SETTERGREN, 1997).

Uma possível explicação para a diversidade dos resultados encontrados na literatura é que devido aos processos que envolvem a cirurgia cardíaca, a CEC e a isquemia-reperfusão, sabe-se que é possível que o processo inflamatório que afeta o epitélio pode produzir um aumento na produção de NO que é exatamente balanceado pelo aumento da degradação e metabolismo, não sendo assim detectado em condições basais (KÖVESI ET AL 1, 2003). Nestas condições o NO pode servir como antioxidante (inibindo a formação de radicais livres) e como oxidante (contribuindo para a formação do peroxinitrito). Ambas estas reações podem levar ao consumo de NO e reduzir os seus níveis de bioatividade para elicitar sinalização e função biológica normais no pulmão (KÖVESI et al 2, 2003).

Estudos sugerem que a dinâmica do NO após a estimulação farmacológica pode ser utilizada para investigar a disfunção vascular pulmonar (TÖRNBERG et al, 2005). Sabe-se que uma fração da NTG é metabolizada na microvasculatura pulmonar para NO, que se difunde para o espaço alveolar elevando o NO exalado. Assim a indução por NTG pode ser uma ferramenta útil para monitorar a função metabólica da microvasculatura pulmonar (KÖVESI et al 2, 2003) já que resultados diversos têm sido encontrados para os níveis de NO exalado basal que muitas vezes pode somente refletir a atividade do epitélio da via aérea (KÖVESI et al 1, 2003). Per Agvald et al (2001) observaram um aumento das concentrações de NO exalado obtidas de doadores de NO durante condições hipóxicas ($\text{FiO}_2 < 3\%$) *in vivo* enquanto que a produção endógena de NO dependendo da L-arginina, que é dependente do endotélio, diminuiu e se aproximou de zero, sugerindo que este processo pode evocar a vasodilatação preferencial em regiões de tecidos isquêmicos com a utilização de doadores de NO.

No presente estudo, levando em consideração as medicações recebidas por via endovenosa contendo doador de NO (NTG ou NPS) no período pós-operatório observa-se uma tendência à elevação da concentração de nitrito/nitrato no CEP nos períodos de 12 hs PO e 24 hs PO e uma elevação significativa nos períodos de 48 hs PO e 72 hs PO ($p < 0,05$) com relação ao período pré-operatório em ambos os grupos (pacientes que receberam ou não doador de NO). Mas, quando separados os pacientes que não receberam doador de NO, que receberam NTG ou receberam NPS observa-se uma aumento significativo nas concentrações de nitrito/nitrato no CEP nos períodos de 12 hs PO, 48 hs PO e 72 hs PO ($p < 0,05$) e uma tendência a esta elevação no período de 24 hs nos pacientes que receberam NTG. Apesar do

número pequeno de pacientes que utilizaram somente NTG observou-se que a NTG pode elevar significativamente os níveis de nitrito/nitrato no CEP.

Kövesi et al 1 (2003) não encontraram diferenças nos níveis basais de NO exalado pré e pós CEC no paciente sob ventilação mecânica. Mas, quando induziram a produção de NO exalado através da NTG pré e pós CEC observaram que os valores de NO pós CEC diminuíram. Esta diminuição nos níveis de NO exalado após indução de NTG pós CEC também foi observado por Törnberg et al (2005) que foi concomitante ao prejuízo da troca gasosa e do gradiente alvéolo-arterial. O NO exalado basal e o induzido pela NTG possuem características distintas e estes mecanismos fisiológicos contribuem para que o NO seja afetado de diferentes maneiras pela CEC e a cirurgia cardíaca. O exalado basal de NO pode muitas vezes não ser afetado pela resposta inflamatória da isquemia-reperfusão, pois ele reflete o processo epitelial da via aérea que pode não sofrer grandes níveis de comprometimento no processo de lesão do endotélio que envolve a cirurgia cardíaca. Assim, o metabolismo alterado da NTG é mais um efeito vascular do que resultante das vias aéreas ou ações da fase gasosa. É importante lembrar que a rotina da cirurgia cardíaca e da CEC está algumas vezes associada a uma disfunção pulmonar clínica que raramente preenche os critérios de lesão pulmonar aguda. Isto pode estar relacionado à natureza temporária e incompleta da isquemia e reperfusão. Em contraste, o transplante pulmonar está frequentemente associado à lesão pulmonar aguda no período perioperatório que pode estar relacionada à prolongada e completa isquemia do pulmão. O transplante pulmonar está associado à perda do metabolismo da NTG no ar exalado provavelmente pela lesão isquemia-reperfusão. Nestes pacientes, ao contrário dos submetidos à cirurgia cardíaca, pode ser encontrada uma profunda redução dos níveis basais (endógenos) do NO (KÖVESI et al 1, 2003).

Aumento nos níveis de NO exalado também ocorrem quando induzido por substâncias dependentes do endotélio, como a acetilcolina, o que pode refletir a função endotelial e ser útil em distúrbios que afetam a circulação pulmonar (MALMSTRÖM et al, 2003). Törnberg et al (2005) observaram que após a CEC a resistência vascular pulmonar foi atenuada pela acetilcolina enquanto a oxigenação arterial foi prejudicada, indicando disfunção endotelial e pulmonar. Observaram ainda, que a resposta dose-dependente do NO reproduzível após a administração da acetilcolina manteve-se inalterada. Estas descobertas indicam que a disfunção endotelial induzida pela CEC, definida como uma resposta vascular reduzida para a acetilcolina, não está principalmente relacionada à liberação do óxido nítrico exalado pelo endotélio. Em contraste, tanto a indução de NTG quanto o NO basal exalado foram atenuados

após a CEC, o que sugere uma diminuição da conversão de NTG ao NO ou um aumento de eliminação/degradação do NO após isquemia-reperusão.

Malmströnm et al (2003) encontraram um aumento no NO exalado, dependente da dose administrada, através de substâncias independentes do endotélio (doadoras de NO) como a NTG e a NPS. O maior aumento nos picos de NO encontrados foram com a utilização da NTG. Marczin, Riedel e Yacoub (1997) encontraram um aumento transitório, proporcional e dose-dependente do NO no ar exalado após a administração do NTG, sendo este aumento em menor grau para o NPS. Malmströnm et al (2003), utilizando um inibidor que interfere na produção intersticial do NO (inibindo a NOS), a Nw-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), verificaram que os níveis de NO exalado induzidos pela NTG não foram alterados. Estas diferenças nos níveis de NO exalado e nitrito/nitrato no CEP podem ser explicadas pela biotransformação destes nitratos orgânicos pelas células vasculares musculares e pelas células endoteliais. A liberação do NO pelo NPS acontece por via não enzimática; já a liberação do NO pela NTG acontece pela biotransformação celular (FEELISCH & KELM, 1991). Por este motivo as mesmas quantidades de doadores de NO não levam aos mesmos efeitos no ar exalado conforme observado por Marczin, Riedel & Yacoub (1997) e Malmströnm et al (2003) e no CEP do presente estudo, onde maior elevação nos níveis de NO foram encontradas com a utilização de NTG.

Na análise das concentrações plasmáticas do nitrito/nitrato excluindo os pacientes que receberam doadores de NO no pós-operatório não observamos diferença numericamente significativa entre o período pré-operatório e os períodos estudados do pós-operatório (4 hs PO, 12 hs PO, 24 hs PO, 48 hs PO e 72 hs PO). No entanto, observa-se pela curva gerada na análise uma tendência a queda nas concentrações até 12 hs PO com elevação em 24 hs PO e 48 hs PO seguida por nova queda em 72 hs PO. Contudo, se observarmos os valores numéricos gerados no gráfico eles são pequenos quando levada em consideração a variação da curva observada. Desta maneira, realizando outra análise das concentrações plasmáticas do nitrito/nitrato separando os pacientes que receberam ou não doador de NO no período pós-operatório, observou-se uma queda significativa na concentração de nitrito/nitrato no período de 4 hs PO comparado ao período pré-operatório ($p=0,045$).

Em estudo prévio também realizado na Divisão de Cirurgia Cardiorádica do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto FMRP-USP, observou-se que a resposta inflamatória envolvendo a CEC não está associada ao aumento na produção do óxido nítrico. Pacientes que apresentaram síndrome vasoplégica no pós-operatório apresentaram níveis de NOx normais no plasma. Este tipo de análise segundo os autores incluem limitações metodológicas como a

mensuração dos óxidos de nitrogênio e a biodisponibilidade do NO (VIARO ET AL, 2008). Em comentário sobre o trabalho realizado por Viaro et al (2008), Rodriguez et al (2009) sugeriram que os autores poderiam ter encontrado resultados diferentes e obtido maior interesse no estudo se tivessem colhido amostras do sangue venoso pelo menos 48 horas após a CEC. Neste comentário embasaram-se no fato de que a e-NOS parece estar inibida nos primeiros estágios da resposta inflamatória ocasionadas pela CEC, mas, com 4 ou 8 horas a i-NOS começa a ser produzida em vários tecidos gerando vasodilatação sistêmica (MONCADA, PALMER & HIGGS, 1991). Augusto et al (2001), em outro estudo realizado em pacientes submetidos à cirurgia cardíaca, puderam observar um aumento nos níveis plasmáticos de NO_2^- de pacientes submetidos à CRVM no período 24 horas pós CEC. No presente estudo observamos uma queda significativa após 4 horas da CEC em pacientes que receberam ou não doadores de NO que pode estar relacionada à inibição da e-NOS nos primeiros estágios da resposta inflamatória causada pela CEC, à disfunção endotelial, ao aumento da degradação do NO para seus subprodutos e/ou reação com os óxidos de nitrogênio.

Quando realizada a análise das concentrações de nitrito/nitrato no plasma separando os pacientes que não receberam doador de NO, os que receberam NPS ou NTG observou-se uma interação que indica que a utilização de NTG tende a elevar as concentrações (observadas no período de 12 hs) de nitrito/nitrato com relação ao período pré-operatório. Estas diferenças encontradas entre os dois doadores de NO (NPS e NTG) podem estar associadas às diferenças de vias de liberação do NO no organismo (FEELISCH & KELM, 1991) associadas à dose administrada na rotina dos pacientes.

É importante ressaltar que os pacientes incluídos neste estudo foram acompanhados até 72 horas do período pós-operatório sendo que os pacientes já estavam sob ventilação espontânea a partir do período de 12 horas. Outros estudo encontrados na literatura acompanharam os pacientes até no máximo 24 horas do período pós-operatório principalmente com o paciente sob ventilação mecânica. Os diferentes resultados encontrados com relação às concentrações basais de nitrito/nitrato no CEP (elevação nas concentrações) no presente estudo podem ter ocorrido devido ao acompanhamento gradual e amplo pelo período de até 72 horas do pós-operatório trazendo novas informações e perspectivas sobre a produção do NO na via aérea após os processos que envolvem a cirurgia cardíaca, incluindo a disfunção endotelial e pulmonar.

Ressaltamos que a identificação das medicações contendo nitrato, IECA e doadores de NO (NTG e NPS) que foram utilizados nos pacientes que participaram deste estudo foi

realizada por observação, ou seja, estas medicações foram usadas de acordo com o critério médico a partir do quadro clínico do paciente no período pós-operatório. Na rotina do pós-operatório de Cirurgia Cardíaca no Hospital das Clínicas da FMRP-USP a NPS é utilizada para controle da HAS e diminuição de pós-carga e a NTG é utilizada como rotina nos pacientes submetidos à CRVM que utilizam enxerto radial. Por este motivo, não possuímos a informação dos valores de nitrito/nitrato no CEP e plasma induzidos pela NPS ou NTG no período pré-operatório como em outros estudos elucidados nesta discussão. No período pré-operatório os pacientes estavam em internação hospitalar na enfermaria da Instituição e não houve necessidade de utilização destes tipos de nitratos orgânicos (doadores de NO) por via endovenosa. Assim, os pesquisadores responsáveis apenas observaram estas interações medicamentosas com os resultados encontrados.

Futuras pesquisas devem ser direcionadas com o intuito de identificar a interação da utilização do NO como biomarcador quando há a utilização de medicação contendo nitratos, principalmente durante o período pós-operatório. Ainda, outros biomarcadores devem ser utilizados na análise do CEP para verificar importância do processo inflamatório que pode ser proveniente do epitélio das vias aéreas e do endotélio vascular pulmonar. Outros biomarcadores também devem ser utilizados no plasma para avaliação dos processos do NO do endotélio vascular.

Além do NO o CEP pode prover outros marcadores inflamatórios para análise do estresse oxidativo. Apesar de o dispositivo empregado ter sido de baixo custo e reprodutível, a análise das concentrações de nitrito/nitrato pelo método de quimioluminescência requer tempo, equipamento sofisticado além de equipe especializada. Quando a molécula de interesse for somente o NO talvez outro método, como a coleta do ar exalado exija menor custo e mais agilidade nos resultados, como a utilização de um método *on line* comercialmente disponível. No entanto, não encontramos disponível na literatura dados a respeito de método semelhante para análise plasmática do NO.

7 CONCLUSÃO

Não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações de nitrito/nitrato no CEP dos pacientes coronariopatas e valvopatas estudados no período pré-operatório, exceto elevação significativa encontrada em pacientes que utilizaram dinitrato de isossorbida por via oral.

Observamos que as concentrações de nitrito/nitrato no CEP tenderam a elevação no período pós-operatório em pacientes que utilizaram ou não doadores de NO. Esta elevação foi observada principalmente quando levada em consideração a medicação NTG.

As concentrações de nitrito/nitrato no plasma foram significativamente reduzidas após 4 horas da CEC no pós-operatório imediato comparando-se ao período pré-operatório em pacientes que utilizaram ou não medicação contendo doador de NO no pós-operatório. No entanto, observou-se que a NTG tende a elevar as concentrações de nitrito/nitrato no plasma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN THORACIC SOCIETY WORKSHOP PROCEEDINGS: Exhaled Nitric Oxide and Nitric Oxide Oxidative Metabolism in Exhaled Breath Condensate. **Proc Am Thorac Soc**, vol 3. p 131–145, 2006.
- AMORIM, CG. MALBOUISSON, LMS. SARAIVA, BM. PEDRO, FMS. MARTINS, MA. Avaliação do Óxido Nítrico Exalado em Pacientes Submetidos à Revascularização do Miocárdio com Circulação Extracorpórea. **Rev Bras Anesthesiol**; v. 59: 3, p. 286-296, 2009.
- ANGDIN, M SETTERGREN, G. Acetylcholine reactivity in the pulmonary artery during cardiac surgery in patients with ischemic or valvular heart disease. **J Cardiothorac Vasc Anesth**, v.11, p. 458–62, 1997.
- ARCHER, S. Measurement of nitric oxide in biological models. **FASEB J.**, v. 7, p. 349-60, 1993.
- AUGUSTO, V.D.S. REIS, G.S. CAPELLINI, V.K. CELOTTO, A.C. RODRIGUES, A.J. EVORA, P.R.B. Estudo do nitrito do condensado do exalado pulmonar em pacientes submetidos à cirurgia cardíaca com CEC. **Rev Bras Cir Cardiovasc**. v.26(1), p.15-5, 2011.
- BARNES, P.J. BELVISI, M.G. Nitric oxide and lung disease. **Thorax**, v 48, p. 1034–1043, 1993.
- BEGHETTI, M. SILKOFF, P.E. CARAMORI, M. HOLTBY, H.M. SLUTSKY, A.S. ADATIA, I. Decreased Exhaled Nitric Oxide May Be a Marker of Cardiopulmonary Bypass–Induced Injury. **Ann Thorac Surg**, v. 66, p. 532– 534, 1998.
- BRASHER, P.A. MCCLELLAND, K.H. DENEHY, L. STORY, I. Does removal of deep breathing exercises from a physiotherapy program including pre-operative education and early mobilisation after cardiac surgery alter patient outcomes? **Australian Journal of Physiotherapy**; v.49, p. 165-173, 2003.
- COOKE, J.P. SINGER, A.H. TSAO, P. ZERA, P. ROWAN, R.A. BILLINGHAM, M.E. Antiatherogenic Effects of L-Arginine in the Hypercholesterolemic Rabbit. **J. Clin. Invest**, vol. 90, p. 1168-1172, 1992.
- CORRADI, M. PESCI, A. CASANA, R. ALINOVI, R. MATTEO GOLDONI, M. VETTORI, M.V. CUOMO, A. Nitrate in exhaled breath condensate of patients with different airway diseases. **Nitric Oxide**, v. 8, p. 26–30, 2003.
- CORRADI, M. GOLDONI, M. CAGLIERI, A. FOLESANI, G. POLI, D. CORTI, M. ANTONIO MUTTI, A. Collecting Exhaled Breath Condensate (EBC) with Two Condensers

in Series: A Promising Technique for Studying the Mechanisms of EBC Formation, and the Volatility of Selected Biomarkers. **Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery**, v. 21 (1), p.35-44, 2008.

DONMEZ, G. DERICI, U. ERBAS, D. ARINSOY, T. ONK, A. SINDEL, S. HASANOGLU, E. The effects of losartan and enalapril therapies on the levels of nitric oxide, malondialdehyde, and glutathione in patients with essential hypertension. **Jpn J Physiol**. V.52(5), p.435-40, 2002.

FEELISCH, M. KELM, M. Biotransformation of organic nitrates to nitric oxide by vascular smooth muscle and endothelial cells. **Biochem Biophys Res Commun**, v.180 (1), p. 286–293, 1991.

FLORA FILHO, R. ZILBERSTEIN, B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções. **Rev Ass Med Brasil**, vol.46(3): p.265-71, 2000.

FURCHGOTT, R.F. ZAWADZKI, J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, vol. 288, n. 27, p. 373-375, 1980.

GASTON, B. DRAZEN, J.M. LOSCALZO, J. STAMLER, J.S. 1994. The biology of nitrogen oxides in the airways. **Am. J. Respir. Crit. Care Med**, v.149, p. 538–551, 1994.

GIRGIS, R.E. CHAMPION, H.C. DIETTE, G.B. JOHNS, R.A. PERMUTT, S. SYLVESTER, J.T. Decreased Exhaled Nitric Oxide in Pulmonary Arterial Hypertension Response to Bosentan Therapy. **Am J Respir Crit Care Med**, vol 172, p. 352–357, 2005.

GUSTAFSSON, L.E. LEONE, A.M. PERSSON, M.G. WIKLUND, N.P. MONCADA, S. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans. **Biochem Biophys Res Commun**, v.181, p. 852–857, 1991.

HICKS, J.D. Acute arterial necrosis in the lungs. **J Pathol Bacteriol**, vol 65, p. 333-343, 1953.

HOFFMEYER, F. RAULF-HEIMSOTH, M. BRÜNING, T. Exhaled breath condensate and airway inflammation. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v. 9, p.16–22, 2009.

HORVÁTH, I. HUNT, J. BARNES, P.J. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. **Eur Respir J**, v. 26, p. 523–548, 2005.

HO, L.P. INNES, J.A. GREENING, A.P. Nitrite levels in breath condensate of patients with cystic fibrosis is elevated in contrast to exhaled nitric oxide. **Thorax**, v. 53(8), p.680-4, 1998.

IGNARRO, L.J. FUKUTO, J.M. GRISCAVAGE, J.M. ROGERS, N.E. BYRNS, R.E.. Oxidation of nitric oxide in aqueous solution to nitrite but not nitrate: Comparison with enzymatically formed nitric oxide from L-arginine. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, vol. 90, p. 8103-8107, 1996.

ISHIBE, Y. LIU, R. HIROSAWA, J. KAWAMURA, K. YAMASAKI, K. NORIKI, S. Exhaled nitric oxide level decreases after cardiopulmonary bypass in adult patients. **Crit Care Med**, vol. 28, No. 12, p. 3823-3827, 2000.

JAMES, S.L. Role of nitric oxide in parasitic infections. **Microbiol. Rev.**, v. 59(4), p. 533-47, 1995.

JOÃO, P. R. D; FARIA JÚNIOR, F. Cuidados imediatos no pós-operatório de cirurgia cardíaca. **Jornal de Pediatria**, v. 79, supl. 2, p. 213-222, 2003.

KAY, J.M. EDWARDS, FR. Ultrastructure of alveolar-capillary wall in mitral stenosis. **J Pathol**, vol. 111, p. 239-245, 1973.

KHARITONOV, S.A. Exhaled markers of inflammatory lung diseases: ready for routine monitoring? **Swiss Med Wkly**, v. 134, p. 175–192, 2004.

KHARITONOV, S.A. BARNES, P.J. Exhaled Markers of Pulmonary Disease. **Am J Respir Crit Care Med**, vol. 163, p. 1693-1722, 2001.

KIECHELE, F.L. MALINSKI, T. Nitric oxide: biochemistry, pathophysiology, and detection. **Am J Clin Pathol**, v. 100, p. 567-75, 1993.

KOMAI, H. YAMAMOTO, F. TANAKA, K. MURASHITA, T. SHIBATA, T. SAKAI, H. KAWASHIMA, Y. Increased lung injury in pulmonary hypertensive patients during open heart operations. **Ann Thorac Surg**, vol. 55(5), p. 1147-1152, 1993.

KOMAI, H. NAITOA, Y. AIMIB, Y. KIMURA, H. Nitric oxide synthase expression in lungs of pulmonary hypertensive patients with heart disease. **Cardiovascular Pathology**, v.10, p. 29-32, 2001.

KOSTIKAS, K. KOUTSOKERA, A. PAPIRIS, S. GOURGOULIANIS. W.K.I AND LOUKIDESW, S. Exhaled breath condensate in patients with asthma: implications for application in clinical practice. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 38, p. 557–565, 2008.

(1)KÖVESI, T. ROYSTON, D. YACOUB, M. MARCZIN, N. Basal and nitroglycerin-induced exhaled nitric oxide before and after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. **British Journal of Anaesthesia**, v. 90 (5), p.608-616, 2003.

(2)KÖVESI, T. ROYSTON, D. YACOUB, S.M.H. MARCZIN, N. Exhaled Nitric Oxide in Human Lung Ischemia-Reperfusion In: MARCZIN, N. KHARITONOV, S.A. YACOUB S.M.H. BARNES, P.J. **Disease Markers in Exhaled Breath**. New York: Marcel Dekker, Inc, 2003, p. 259-280.

KUROSE, I. WOLF, R. GRISHAM, MB. GRANGER, DN. Modulation of ischemia/reperfusion-induced microvascular dysfunction by nitric. **Circ. Res.** v74, p. 376-382, 1994.

LAMARCHE, Y. GAGNON, J. MALO, O. BLAISED, G. CARRIER, M. PERRAULT, L.P. Ventilation prevents pulmonary endothelial dysfunction and improves oxygenation after cardiopulmonary bypass without aortic cross-clamping **European Journal of Cardio-thoracic Surgery**, v. 26, 554–563, 2004.

LEFER, A.M. LEFER D.J. Pharmacology of the endothelium in ischemia-reperfusion and circulatory shock. **Ann Rev Pharmacol Toxicol**, v. 33, p. 71-90, 1993.

LEFER, A.M. LEFER D.J. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischaemia-reperfusion. **Cardiovasc Res**, v. 32, p. 743-751, 1996.

LEMA JB, GONZÁLEZ M, VIGIL L, CASAN P. Exhaled Breath Condensate: Standardized Collection of Samples From Healthy Volunteers. **Arch Bronconeumol**; v. 41 (10) p. 584-6, 2005.

LEONE, A.M. PALMER, R.M.J. KNOWLES, R.G. FRANCIS, P.L. ASHTON, D.S. MONCADA, S. Constitutive and Inducible Nitric Oxide Synthases Incorporate Molecular Oxygen into Both Nitric Oxide and Citrulline. **The Journal of Biological Chemistry**, vol 266, nº35, issue 15, p. 23790-23795, 1991.

LIU, J. SANDRINI, A. THURSTON, M.C. YATES, D.H. THOMAS, P.S. Nitric Oxide and Exhaled Breath Nitrite/Nitrates in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients. **Respiration**, v. 74, p. 617–623, 2007.

MALMSTRÖM, RE. TÖRNBERG, DC. SETTERGREN, G. LISKA, J. ANGDIN, MJON O. LUNDBERG, WEITZBERG, E. Endogenous Nitric Oxide Release by Vasoactive Drugs Monitored in Exhaled Air. **AMERICAN JOURNAL OF RESPIRATORY AND CRITICAL CARE MEDICINE**, v. 168, p.114-120, 2003.

MARCZIN⁺ N, RIEDEL, B. ROYSTON, D. YACOUB, M. Intravenous nitrate vasodilators and exhaled nitric oxide. **The Lancet**. v. 349 (9067), p. 1742, 1997.

MARLETTA, M.A. YOON, P.S. IYENGAR, R. LEAF, C.D. AND JOHN S. WISHNOK, J.S. Macrophage Oxidation of L-Arginine to Nitrite and Nitrate: Nitric Oxide Is an Intermediate. **Biochemistry**, vol. 27, nº. 24, p. 8706-8711, 1988.

MIYAJI, K. T; BUSCATI, R. I; RODRIGUEZ, A. J. A; MACHADO, L.B; MALBOUISSON, L. M. S; CARMONA, M.J.C. Avaliação da correlação entre o dióxido de carbono expirado e o débito cardíaco em pacientes submetidos à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea. **Rev. Bras. Anesthesiol**, v. 54, n. 5, p. 625–633, set./out. 2004.

MOLONEY, E.D. MUMBY, S.E. GAJDOCSI, R. CRANSHAW, J.H. KHARITONOV, S.A. QUINLAN, G.J. GRIFFITHS, M.J. Exhaled Breath Condensate Detects Markers of Pulmonary Inflammation after Cardiothoracic Surgery. **Am J Respir Crit Care Med**, vol 169, p 64–69, 2004.

MONCADA, S. PALMER, R.M.J. HIGGS, E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. **Pharmacol. Reviews**, v. 43, p. 109-42, 1991.

MONTUSCHI P, BARNES PJ. Analysis of exhaled breath condensate for monitoring airway inflammation. **Trends in Pharmacological Sciences**; v, 23 (5), p.232-7, 2002.

MONTUSCHI, P. Exhaled breath condensate analysis in patients with COPD. **Clinica Chimica Acta**, v. 356, Issues 1-2, p. 22-34, 2005.

MORRIS, S.M. BILLIAR, T.R. New insights into the regulation of inducible nitric oxide synthesis. **Am J Physiol**, v. 266, p. E829-839, 1994.

MOSHAGE, H. KOK, B. HUIZENGA, JANSEN, J.R.P.L. Nitrite and nitrate determinations in plasma: a critical evaluation, **Clin. Chem.**, V. 41, p. 892–896, 1995.

MOURA, H. V; POMERANTZEFF P. M. A; GOMES, W. J. Síndrome da resposta inflamatória sistêmica na circulação extracorpórea: papel das interleucinas. **Rev. Bras. Cir. Cardiovasc**, v. 16, n. 4, p. 376-387, 2001.

PALMER, R.M.J. ASHTON, D.S. MONCADA, S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. **Nature**, vol. 333, p. 664-666, 1988.

PALMER, R.M.J. FERRIGE, A.G. MONCADA, S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. **Nature**, vol. 327, p. 524-526, 1987.

PEARL, J.M. NELSON, D.P. WELLMANN, S.A. RAAKE, J.L. WAGNER, C.J. MCNAMARA, J.L. DUFFY, J.Y. Acute hypoxia and reoxygenation impair exhaled nitric

oxide release. **The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, Volume 119, nº 5, p. 931-938, 2000.

PER AGVALD, L. ADDING, C. ARTLICH, A. PERSSON, MG. GUSTAFSSON, LE. Mechanisms of nitric oxide generation from nitroglycerin and endogenous sources during hypoxia in vivo. **British Journal of Pharmacology**. V.135, p. 373 - 382, 2001.

PERSSON MG, ZETTERSTROM O, AGRENIUS V, IHRE E, GUSTAFSSON LE. Single-breath nitric oxide measurements in asthmatic patients and smokers. **Lancet**, vol. 343, p. 146-147, 1994.

PUHAKKA, A.R.A. HARJU, T.H. PÄÄKKÖ, P.K. SOINI, Y.M. KINNULA, V.L. Nitric oxide synthases are associated with bronchial dysplasia. **Lung Cancer**, v. 51, p. 275—282, 2006.

REIS, G.S. AUGUSTO, V.D.S. SOUZA, M.E.J. BALDO, C.F. RODRIGUES, A.J. EVORA, P.R.B. Exhaled breath condensate collection for nitrite dosage. A safe and low cost adaptation. **Acta Cirúrgica Brasileira**, Vol. 25 (2), p-206-213, 2010.

RICH, S. BRAUNWALD, E. GROSSMAN, W. Hipertensão Pulmonar. In: BRAUNWALD, E. Tratado de Medicina Cardiovascular. São Paulo: Roca, 1999. 5 ed. vol.1. p. 831-893.

RICCIARDOLO, F.L.M. Multiple roles of nitric oxide in the airways. **Thorax**, v. 58, p.175–182, 2003.

ROBROEKS, C.M.H.H.T. ROSIAS, P.P.R. VAN VLIET, D. JOHNSON, Q. YNTEMA, J-B.L. BRACKEL, H.J.L. DAMOISEAUX, J.G.M.C. DEN HARTOG, G.M. WODZIG, W.K.W.H. DOMPELING, E. Biomarkers in exhaled breath condensate indicate presence and severity of cystic fibrosis in children. **Pediatr Allergy Immuno**, p, 1-8, 2008. Disponível em: <www.blackwell-sinergy.com>. Acesso em: 15/04/2008.

ROCA, O. GÓMEZ-OLLÉ, S. CRUZ, M.J. MUNOZ, X. GRIFFITHS, M.J.D. MASCLANS, J.R. Mechanical ventilation induces changes in exhaled breath condensate of patients without lung injury. **Respiratory Medicine**, v.104, p. 822-828, 2010.

RODRÍGUEZ, M.A.P. MORAS, L.M.C. GONZALO, L.S. LIMÓN, I.M.G. MOLLINEDO, F. Letters to the editor: Plasma Nitrate/Nitrite (NOx) Is Not a Useful Biomarker To Predict Inherent Cardiopulmonary Bypass Inflammatory Response. **J Card Surg**, v. 24, p. 357, 2009.

ROMANINI, W. MULLER, A.P. CARVALHO, K.A.T. OLANDOSKI, M. FARIA-NETO, J.R. MENDES, F.L. SARDETTO, E.A. COSTA, F.D.A. GUARITA-SOUZA, L.C. The effects of intermittent positive pressure and incentive spirometry in the postoperative of myocardial revascularization. **Arq Bras Cardiol**; v. 89(2), p. 94-99, 2007.

ROMERO, P.V. RODRÍGUEZ, B. MARTÍNEZ, S. CAÑIZARES, R. SEPÚLVEDA, D. MANRESA, F.. Estrés oxidativo en el condensado exhalado de pacientes con infección pulmonar grave. **Arch Bronconeumol**, v. 42(3), p.113-9, 2006.

SUMINO, H. NAKAMURA, T. KANDA, T. SATO, K. SAKAMAKI, T. TAKAHASHI, T. SAITO, Y. HOSHINO, J. KURASHINA, T. NAGAI, R. Effect of Enalapril on Exhaled Nitric Oxide in Normotensive and Hypertensive Subjects. **Hypertension**, v. 36 p. 934-940, 2000.

TÖRNBERG, DC. ANGDIN, M. SETTERGEN, G. LISKÁ, J. LUNDBERG, JO. Weitzberg, E. Exhaled nitric oxide before and after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass—response to acetylcholine and nitroglycerin. **British Journal of Anaesthesia**, v.94(2), p.174–80, 2005.

VAUGHAN, J. NGAMTRAKULPANIT, L. PAJEWSKI, T.N. TURNER, R. NGUYEN, T-A. SMITH, A. URBAN, P. HOM, S. GASTON, B. HUNT, J. Exhaled breath condensate pH is a robust and reproducible assay of airway acidity. *Eur Respir J*, n. 22, p. 889–894, 2003.

VENTO, D.A. ARCENCIO, L. RODRIGUES, A.J. Nitric oxide in the exhaled breath condensate of health volunteers via a reusable device. **Archivos de Bronconeumología** (Ed. impresa), 2012.

VIARO, F. BALDO, CF. VERENA KISE CAPELLINI, VK. CELOTTO, AC. BASSETTO, S. RODRIGUES, ÉVORA, PRB. Plasma Nitrate/Nitrite (NO_x) Is Not a Useful Biomarker to Predict Inherent Cardiopulmonary Bypass Inflammatory Response. **J CARD SURG**, v. 23, p. 336-338, 2008.

WALSH, B.K. MACKEY, D.J. PAJEWSKI, T. YU, Y. GASTON, B.M. HUNT, J. Exhaled-Breath Condensate pH Can Be Safely and Continuously Monitored in Mechanically Ventilated Patients. **Respir Care**, n. 51(10), p.1125–1131, 2006.

ANEXOS

ANEXO I

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

www.hcrp.fmrp.usp.br

Ribeirão Preto, 13 de maio de 2009

Ofício nº 1408/2009
CEP/MGV

Depto. de Cirurgia e Anatomia

Recebi Sandra

Data 24.05.09

Hora 11:00

Prezados Senhores,

O trabalho intitulado **“ESTUDO DO NITRITO/NITRATO DO CONDENSADO EXALADO PULMONAR EM PACIENTES SUBMETIDOS À CIRURGIA CARDÍACA COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA E SUA RELAÇÃO COM A HIPERTENSÃO PULMONAR PRÉVIA”** foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 286ª Reunião Ordinária realizada em 11/05/2009 e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, de acordo com o Processo HCRP nº 3228/2009.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente.

DRª MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Vice-Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimos Senhores

LÍVIA ARCÊNCIO

PROF. DR. ALFREDO JOSÉ RODRIGUES (Orientador)

Depto. de Cirurgia e Anatomia

ANEXO II

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pesquisa: ESTUDO DO NITRITO/NITRATO NO CONDENSADO DO EXALADO PULMONAR E NO PLASMA DE PACIENTES VALVOPATAS E CORONARIOPATAS SUBMETIDOS À CIRURGIA CARDÍACA COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

Aluna: Livia Arcencio.

Orientador: Prof. Dr. Alfredo José Rodrigues

1. Natureza da pesquisa: Você é convidado(a) a participar desta pesquisa, que tem como finalidade investigar o exalado dos seus pulmões antes e depois da sua cirurgia cardíaca com um dispositivo não invasivo.
2. Envolvimento na pesquisa: Ao participar deste estudo você deve permitir que um membro deste projeto entreviste, avalie e execute a coleta do condensado do exalado pulmonar em você. Todas essas etapas serão realizadas no Hospital da Clínicas de Ribeirão Preto – FMRP/USP.
3. Riscos e desconforto: A participação nesta pesquisa não trás complicações legais. Os procedimentos utilizados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética na Pesquisa com Seres Humanos conforme a Resolução n.196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Nenhum dos procedimentos utilizados oferece riscos a sua dignidade.
6. Confidencialidade: Todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Os relatos da pesquisa serão identificados com um código, e não com o seu nome. Apenas os membros da pesquisa terão conhecimento dos dados.
7. Benefícios: Ao participar desta pesquisa você não deverá ter nenhum benefício direto. No entanto, no futuro, essas informações poderão ser usadas em benefício de outros pacientes.
8. Pagamento: Você não terá nenhum tipo de despesa por participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação.
9. Liberdade de Participação: Sua participação neste estudo é voluntária e é seu direito interromper sua participação a qualquer momento sem que isso incorra em qualquer penalidade ou prejuízo a sua pessoa. Você também tem o direito de se excluir deste

experimento no caso de abandono dos procedimentos ou condutas inadequadas durante o período de aplicação da intervenção. Em caso de dúvida quantos aos seus direitos, durante ou após a sua participação neste estudo, você ou seu familiar poderá entrar em contato pessoalmente com o Prof. Dr. Alfredo José Rodrigues na Divisão de Cirurgia Torácica e Cardiovascular do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto – FMRP/USP, no Campus da USP ou, através do telefone: (16) 3602-2497.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto, preencha os itens que segue:

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, Eu _____, Portador do RG nº _____, de forma livre e esclarecida, manifesto meu interesse em participar da pesquisa “Estudo do nitrito/nitrato no condensado do exalado pulmonar e no plasma de pacientes valvopatas e coronariopatas submetidos à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea”

Ribeirão Preto, _____ de _____ 20____.

Assinatura do participante da pesquisa

Assinatura do participante da pesquisa

Testemunha 1 (leitor) do paciente

Assinatura da Testemunha 1

Testemunha 2 (leitor) do paciente

Assinatura da Testemunha 2

ANEXO III

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO
PRETO – USP**

Serviço de Fisioterapia Córdio-respiratória

Ficha de Avaliação

Paciente: _____
Registro: _____ Leito: _____ Sexo: () fem () masc
Idade: _____ Peso: _____ IMC: _____ kg/m²
Profissão: _____
Internação: __/__/__ Avaliação: __/__/__ Cirurgia: __/__/__
Diagnóstico Clínico/Cirúrgico: _____

Antecedentes Pessoais:

() HAS	() HF+ para doença cardiovascular
() Dislipidemia	() AVC ano: _____
() Sedentarismo	() Angioplastia ano: _____
() Infarto prévio ano: _____	() Doença Venosa Periférica
() Doença Arterial Periférica	() ICC
() Doença Reumática	() DPOC
() Tabagista*	() Asma
() Ex-tabagista	
() Diabetes	

* Tabagista: hábito tabágico no mínimo um ano-maço e está em uso no momento ou parou de fumar há menos de oito semanas do ato cirúrgico.

* Ex-tabagista: fumou no mínimo um ano-maço e parou de fumar há mais de oito semanas do ato cirúrgico.

Sintomatologia: NYHA

- () IC CF I
() IC CF II
() IC CF III
() IC CF IV
() Dor precordial relacionada aos esforços
() DPN
() Ortopnéia

Atividade física:

Tipo de exercício: _____ Duração: _____ Frequência (sem.): _____

Exame físico:

() paciente colaborativo () paciente pouco colaborativo () paciente desorientado

PA: _____ mmHg FC: _____ bpm FR: _____ ipm T: _____

Cianose: () presente () ausente Edema de MMII: () presente () ausente

Pulsos: () presentes () ausentes qual(is): _____

AP: _____

Tipo respiratório: () costal () diafragmático () misto () assincrônico

Ritmo respiratório: () eupneico () taquipneico () bradipneico
() Cheyne-Stokes () Biot () Kusmall

Tipo de tórax: () normolíneo () brevilíneo () longilíneo

Forma de tórax: () normal () tonel () pectus carinatum (peito de pombo)
() cifótico () escoliótico () pectus excavatum (funil)

Faz uso da musculatura acessória: () sim () não

Tosse: () eficaz () ineficaz () produtiva aspecto: _____

Expansibilidade torácica: () preservada () diminuída

Força Muscular: diafragma: _____ intercostais: _____ abdominais: _____

Diafragma:

Bom= expulsa a mão do fisioterapeuta.

Regular= começa a expulsar a mão do fisioterapeuta, mas termina com respiração costal.

Ruim= sente contração do diafragma, mas realiza apenas respiração costal.

Intercostais:

Bom= sente contração muscular, aumento dos espaços intercostais e horizontalização das costelas.

Regular= sente contração muscular, aumento dos espaços intercostais e costelas verticalizadas.

Ruim= sente leve contração muscular, sem aumento dos espaços intercostais e costelas imóveis.

Ventilometria:

CV: _____ VC: _____ FR: _____ V_E: _____

Motivo da não realização: _____

Manovacuometria:

PI_{máx}: _____ cmH₂O PE_{máx}: _____ cmH₂O

Motivo da não realização: _____

Peak Flow: _____ L/min

Teste de Caminhada de Seis Minutos:

Horário da realização: _____

BORG inicial: _____

BORG final: _____

FC inicial: _____ bpm

FC final: _____ bpm

Distância percorrida: _____ metros

Motivo da não realização: _____

Exames complementares:

Raio-X de tórax: _____

Ecocardiograma:

Desempenho sistólico de VE: () preservado () diminuído-leve () moderado () grave
FE (%): _____

Espirometria:

CVF: _____ (% do predito)

VEF₁: _____ (% do predito)

VEF₁/CVF: _____ (% do predito)

FEF₂₅₋₇₅: _____ (% do predito)

Gasometria:

PaO₂: _____ mmHg

HCO₃⁻: _____

SatO₂: _____ %

PaCO₂: _____ mmHg

BE: _____

pH: _____

Medicamentos em uso: _____

Observações: _____

Fisioterapeuta: _____

ANEXO IV

FORMULÁRIO COLETA DE DADOS CLÍNICOS

Registro HC: _____ Sexo M ☐ F ☐, Idade na data da

operação: _____ anos, Peso _____ kg , Estatura _____ cm

Diagnóstico: _____

DATA DA OPERAÇÃO / /

Angina: ☐ Nenhuma ☐ Estável ☐ Instável , **Classe NYHA:** ☐ I, ☐ II, ☐ III, ☐ IV

Fração de ejeção= 0,_____

Classe angina ☐ I, ☐ II, ☐ III, ☐ IV

Antecedentes: ☐ Fibrilação atrial, ☐ Flutter atrial, ☐ Lesão TCE > 50%, ☐ Diabetes, ☐

Obst. Carótida (>50%), ☐ Estado crítico pré-op(VM, BIA, uso dopa/dobut, choque, dissec

tipo A, etc) , ☐ AVC, ☐ DPOC, ☐ Doença vascular perif, (claud interm, AAA, esten. renal),

☐ HAS, ☐ Creatinina > 1,5 ☐ ICC desconp, ☐ Tabagista, ☐ ex-tabagista, ☐ IAM > 30 dias,

☐ IAM < 30 dias, ☐ Hipert pulmonar (> 50 mmhg), ☐ aneurisma VE, ☐ aneurisma aorta,

Número coron. lesão >60%: _____, HB/HT pré-op: _____/_____

Lesão Mitral: ☐ nenhuma, ☐ insuficiência, ☐ estenose, ☐ dupla

Lesão v. aórtica ☐ nenhuma, ☐ insuficiência, ☐ estenose, ☐ dupla

Lesão v. Tricúspide ☐ nenhuma, ☐ insuficiência, ☐ estenose, ☐ dupla

Medicação em Uso:

Fez operação cardíaca prévia: ☐ Sim, ☐ Não: ☐ Valva, ☐ Revasc., ☐ AnAo, ☐ outra:

Operação realizada :

Tempo aorta=_____min, Tempo CEC=_____min

Necessitou re-operação na internação: ☐sim ☐não motivo: ☐sangramento, ☐isquemia,
outra:

Evolução PO

Tempo Vent mecânica invasiva: _____ **horas**

Respiratória: ☐ Insuf. Resp (VM > 72h), ☐Pneumonia, ☐SARA, ☐

outra _____

Infecção: ☐ incisão esterno superf, ☐mediastinite, ☐incisão safenectomia, ☐ITU, ☐

outra:

Hemodinâmica: ☐ Instab hemod ☐Vasoplegia, ☐ IAM, ☐Choque cardiog, ☐BAV
defint, ☐outra:

Renal: ☐ Insuf renal aguda - **Se infecção** agente etiolog. _____

Neurológica: ☐AVCI, ☐Coma (inconsc > 48h PO), outra:

Vascular: ☐Obst arterial aguda, ☐dissec aguda da aorta, A ou B

Outras complicações: _____

ÓBITO (até 30 dias da alta) : ☐Sim, ☐Não:

Causa óbito: _____

APÊNDICE

APÊNDICE I

DADOS DE COLETA DO CEP

Paciente: _____ Tempo de CEC: _____ Horário de Saída de CEC: _____

	Pré-Operatório	4 hs PO	12 hs PE	24hs PE	48 hs PE	72h PE
Ventilação Espontânea? S/N (Parâmetros)						
Suporte de O2? S/N, dose, SpO2.						
Rx Tórax						
Ausculta						
Gasometria						
PA (S/D/média)						
PAP (S/D/Média)						
Índice cardíaco						
PVC						
PAE ou PCP						
Dopamina sim/não? Dose						
Dobutamina sim/não? Dose						
Noradrenalina sim/não? Dose						
Nitroglicerina sim/não? Dose						
Nitroprussiato de sódio sim/não? Dose						
Volume Coletado CEP						
VT exalado						
VM Médio						
FR média						
NO CEP						
NO plasma						

VENTILAÇÃO DURANTE A COLETA

Coleta Pré-Operatória:

	VM	FR		VM	FR
1°			6°		
2°			7°		
3°			8°		
4°			9°		
5°			10°		

Coleta 4 h PO (horário:)

	VM	FR		VM	FR
1°			6°		
2°			7°		
3°			8°		
4°			9°		
5°			10°		

Coleta 12 h PE (horário:)

	VM	FR		VM	FR
1°			6°		
2°			7°		
3°			8°		
4°			9°		
5°			10°		

Coleta 24 h PE (horário:)

	VM	FR		VM	FR
1°			6°		
2°			7°		
3°			8°		
4°			9°		
5°			10°		

Coleta 48 h PE (horário:)

	VM	FR		VM	FR
1°			6°		
2°			7°		
3°			8°		
4°			9°		
5°			10°		

Coleta 72 h PE (horário:)

	VM	FR		VM	FR
1°			6°		
2°			7°		
3°			8°		
4°			9°		
5°			10°		