

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

KELLY CRISTINA DE OLIVEIRA ABUD

**Padrões hemodinâmicos pulmonares em pacientes pediátricos com defeitos
septais cardíacos congênitos: relação com mediadores inflamatórios e a
presença não suspeitada de vírus
respiratórios**

SÃO PAULO

2023

KELLY CRISTINA DE OLIVEIRA ABUD

**Padrões hemodinâmicos pulmonares em pacientes pediátricos com defeitos
septais cardíacos congênitos: relação com mediadores inflamatórios e a
presença não suspeitada de vírus
respiratórios**

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

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Antonio Augusto Barbosa Lopes

SÃO PAULO

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Abud, Kelly Cristina de Oliveira
Padrões hemodinâmicos pulmonares em pacientes
pediátricos com defeitos septais cardíacos
congenitos : relação com mediadores inflamatórios e a
presença não suspeitada de vírus respiratórios / Kelly
Cristina de Oliveira Abud. -- São Paulo, 2023.
Tese (doutorado) -- Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Cardiologia.
Orientador: Antonio Augusto Barbosa Lopes.

Descritores: 1. Cardiopatias congênitas 2. Vírus
respiratórios 3. Hipertensão pulmonar 4. Cirurgia
cardíaca pediátrica 5. Resposta inflamatória pós-
operatória 6. Unidades de terapia intensiva
pediátrica

USF/FM/DBD-502/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Nome: ABUD, Kelly Cristina de Oliveira

Título: Padrões hemodinâmicos pulmonares em pacientes pediátricos com defeitos septais cardíacos congênitos: relação com mediadores inflamatórios e a presença não suspeitada de vírus respiratórios

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Doutor em Ciências
Programa de Cardiologia
Orientador: Prof. Dr. Antonio Augusto Barbosa Lopes

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Dedicatória

Aos meus pais, Rui e Rosa, por se dedicarem à minha construção como ser humano, pelo seu exemplo de trabalho, ética e disciplina, por todo amor, e por me darem oportunidade de retribuir com imensa gratidão tudo o que fizeram por mim.

À minha irmã, Marcia, por cuidar do nosso bem mais precioso, nossos pais, pela busca incansável de fazer o seu melhor, por me ouvir, incentivar e mesmo distante, nunca soltar minha mão.

Às minhas filhas, Laura e Gabriela, por me mostrarem que o tempo melhora tudo, que um abraço cura todos os males, e por fazer de mim um ser humano melhor.

Ao meu marido por cuidar de tudo nos momentos de ausência, por ser um pai dedicado, por não desistir de estar comigo nesta jornada de vida.

À minha fiel companheira Ariel que aquece meus pés e me faz sorrir, me lembrando todos os dias do poder do amor incondicional.

À minha madrinha, Vera Lúcia, que com seus abraços e orações me fez sentir protegida, amada e fortalecida na minha fé.

À minha amiga Emília Nozawa pelo incentivo em me embrenhar no mundo da ciência, por me ensinar que a disciplina nos leva muito longe, e pelo apoio nas decisões mais difíceis.

Aos meus amigos da “Velha Guarda” que me ouviram e souberam cantar e dançar comigo ainda que eu estivesse cansada, celebrando cada pequena vitória.

À Ana Gabriela, minha amiga e treinadora, que me manteve forte, saudável e perseverante para eu chegasse até aqui e muito mais.

Agradecimientos

A Deus, todas as minhas preces não seriam suficientes para expressar o sentimento de humildade e gratidão que sinto por ter chegado até aqui. A Fé me move e me guia nesta trajetória em busca do saber científico.

Ao meu orientador, Prof. Antonio Augusto, por ser muito mais que um professor e me levar além das minhas capacidades, por me ensinar o poder do saber na sua essência e por me mostrar que a filosofia resgata a alma cansada, além de ser, sobretudo um amigo e conselheiro em cada momento desta jornada.

À Sra. Roseli Polo por seu apoio incansável na produção científica deste grupo, sem ela nada seria possível.

Às minhas amigas Eloisa e Maria Francilene que em sua sabedoria e paciência me acolheram e me ensinaram que cada momento vivido em busca do conhecimento deve ser aproveitado ao máximo sem perder nossa essência, o cuidado ao paciente.

À Dra. Ana Thomaz pela sua dedicação, pelos conselhos e por sua competência e segurança, fundamentais para o sucesso desta pesquisa.

À Dra. Nair Maeda que com maestria e sabedoria corrigiu desencontros e sanou dúvidas, me mantendo motivada e me despertando para novos horizontes na ciência.

À Dra. Claudia Castro Grau por estar sempre presente para realizar as ecocardiografias deste estudo, sua expertise foi fundamental para o sucesso desta pesquisa.

À Dra. Maria Inez Feltrim, diretora do serviço de fisioterapia, por incentivar meu crescimento profissional e ser exemplo de dedicação e competência.

Ao time da Secretaria de Pós-Graduação em Cardiologia, do Serviço de Biblioteca, do Instituto do Coração pelo apoio acadêmico e por estarem sempre disponíveis para sanar minhas dúvidas.

À Prof. Dra. Clarisse Martins Machado por sua contribuição inestimável à frente da Virologia do Instituto de Medicina Tropical (IMT).

À Lucy Vilas Boas que esteve sempre disponível no laboratório do IMT, acolhendo nossas amostras e notificando com precisão os resultados.

Aos profissionais da UTI cirúrgica, meus colegas, companheiros, parceiros de uma vida que estiveram sempre comigo na coleta de dados e cuidado de excelência com nossas crianças.

Ao time da unidade de cirurgia cardíaca pediátrica, em especial Prof. Fr. Marcelo Jatene e ao Dr. Juliano Penha que com mãos precisas e precisão impecável contribuiu para o sucesso desta pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro concedido para realização desta pesquisa.

Aos pacientes e familiares que me permitiram fazer parte de histórias de amor e superação, e aceitaram contribuir para a ciência com a nobreza de ceder seus dados para este estudo.

Agradeço a todos que de alguma forma estiveram presentes ao longo da minha trajetória, me incentivando e fortalecendo para que eu chegasse até aqui.

“Esforça-te, e tem bom ânimo; não temas, nem te espantes; porque o Senhor teu Deus
é contigo, por onde quer que andares.”

Josué 1:9

Resumo

Abud KCO. Padrões hemodinâmicos pulmonares em pacientes pediátricos com defeitos septais cardíacos congênitos: relação com mediadores inflamatórios e a presença não suspeitada de vírus respiratórios [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

Introdução: Nos defeitos septais cardíacos, ocorrem alterações hemodinâmicas na pequena circulação (modificações de fluxo e pressão) acompanhadas de adaptações estruturais na árvore vascular pulmonar que vão desde hipertrofia de graus variados de células musculares lisas arteriolares, até lesões oclusivas graves. Esse quadro pode acarretar transtornos em vários momentos do tratamento de pacientes pediátricos, particularmente após a cirurgia cardíaca. Sabe-se que as alterações hemodinâmicas pré-operatórias não são o único fator a determinar a magnitude da resposta vascular pulmonar. Evidências atuais apontam para o papel patogênico de agentes biológicos (vírus) no remodelamento de vasos sistêmicos. Outros estudos apontam associação entre vírus e remodelamento vascular pulmonar. Mediadores inflamatórios expressos em decorrência desses patógenos, têm implicação direta em alterações celulares que levam ao remodelamento vascular. O estudo das infecções virais em crianças com cardiopatias se concentra na profilaxia ou em situações de infecções agudas. Não há dados na literatura sobre a relação entre a presença de material genético de vírus respiratórios em vias aéreas e comportamento hemodinâmico pulmonar. **Objetivos:** Verificar o comportamento hemodinâmico pulmonar pós-operatório comparativamente entre crianças portadoras e não portadoras de material genético viral em vias aéreas. **Métodos:** Estudo de coorte prospectivo longitudinal envolvendo comparação entre grupos. Foram incluídos 60 pacientes até três anos de idade, com comunicações cardíacas amplas (não restritivas). As características hemodinâmicas pré-operatórias foram definidas pela ecocardiografia com Doppler. A presença/ausência de material genético de vírus respiratórios em aspirados nasofaríngeos e traqueais foi investigada no pré-operatório, na ausência de sintomas respiratórios, por reação da polimerase em cadeia em tempo real (19 patógenos). Mediadores inflamatórios (36 proteínas) foram analisados no soro mediante ensaio imunoenzimático. O comportamento hemodinâmico pulmonar e sistêmico pós-operatório foi estudado por medidas diretas através de cateteres, computando-se as pressões arteriais média pulmonar e sistêmica (PAP e PAS) e a relação PAP/PAS, e construindo-se curvas de evolução. Para predição de risco foi utilizada variável já estudada em nosso grupo computada nas primeiras horas de pós-operatório, PAP/PAS_{POI}. **Resultados:** Sessenta pacientes foram incluídos (idade 11 [7–16] meses, mediana, intervalo interquartil). A razão pressão arterial média pulmonar/sistêmica (PAP/PAS) pré-operatória foi de 0,78 (0,63–0,88). Genomas virais foram detectados na nasofaringe e na traqueia em 64% e 38% dos pacientes, respectivamente. O Rinovírus foi o agente mais prevalente. A presença de genomas virais

na traqueia foi associada a deslocamento ascendente da curva PAP pós-operatória ($p = 0,011$) com PAP/PAS de 0,44 (0,36–0,50) em pacientes positivos versus 0,34 (0,30–0,45) nos negativos ($p = 0,008$). A presença ou ausência de genomas virais na nasofaringe não se relacionou com a hemodinâmica pós-operatória. A PAP/PAS pós-operatória foi positivamente relacionada a níveis pós-circulação extracorpórea de antagonista do receptor de interleucina-1 ($p = 0,026$), fator inibidor da migração de macrófagos ($p = 0,019$) e proteína quimiotática de monócitos-1 ($p = 0,031$), particularmente em pacientes com vírus – aspirados traqueais positivos. **Conclusões:** Pacientes pediátricos em pós-operatório de cardiopatias congênitas portadores de genomas virais respiratórios nas vias aéreas inferiores apresentam maior risco de hipertensão pulmonar pós-operatória, merecendo especial atenção quanto a medidas de isolamento, testagem e cuidados perioperatórios.

Palavras-chave: Cardiopatias congênitas. Vírus respiratórios. Hipertensão pulmonar. Cirurgia cardíaca pediátrica. Resposta inflamatória pós-operatória. Unidades de terapia intensiva pediátrica

Abstract

Abud KCO. Pulmonary hemodynamic patterns in pediatric patients with congenital cardiac septal defects: relationship with inflammatory mediators and the unsuspected presence of respiratory viruses [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2023.

Background: In congenital heart septal defects, hemodynamic changes occur in the pulmonary circulation, including alterations in flow and pressure, accompanied by structural adaptations in the pulmonary vascular tree ranging from various degrees of vascular smooth muscle cell hypertrophy to severe occlusive lesions. These conditions can lead to complications at various stages of pediatric patient treatment, particularly after cardiac surgery. Preoperative hemodynamic changes are not the sole factor determining the magnitude of the pulmonary vascular response. Current evidence suggests the pathogenic role of biological agents (viruses) in systemic vessel remodeling. Other studies indicate an association between viruses and pulmonary vascular remodeling. Inflammatory mediators expressed due to these pathogens directly impact cellular changes leading to vascular remodeling. Existing research on viral infections in children with heart defects focuses on prophylaxis or acute infection situations. However, there is no literature on the relationship between the presence of respiratory viral genetic material in the airways and pulmonary hemodynamic behavior. **Objectives:** To investigate postoperative pulmonary hemodynamic behavior comparatively between children with and without respiratory viral genetic material in the airways. **Methods:** Prospective longitudinal cohort study involving group comparisons. Sixty patients up to three years old with non-restrictive heart communications were included. Preoperative hemodynamic characteristics were defined by Doppler echocardiography. The presence/absence of respiratory viral genetic material in nasopharyngeal and tracheal aspirates was investigated preoperatively, in the absence of respiratory symptoms, using real-time polymerase chain reaction (19 pathogens). Inflammatory mediators (36 proteins) were analyzed in serum using immunoenzymatic assay. Postoperative pulmonary and systemic hemodynamic behavior was studied through direct measurements using catheters, including mean pulmonary and systemic arterial pressures (PAP and SAP), the PAP/SAP ratio, and pressure curves. A previously studied variable in our group, PAP/SAP_{IPO} , was used for risk prediction. **Results:** Sixty patients were included (age 11 [7–16] months, median, interquartile range). The preoperative pulmonary/systemic mean arterial pressure ratio (PAP/SAP) was 0.78 (0.63–0.88). Viral genomes were detected in the nasopharynx and trachea in 64% and 38% of patients, respectively, with Rhinovirus being the most prevalent agent. The presence of viral genomes in the trachea was associated with an upward shift in the postoperative PAP curve ($p = 0.011$), resulting in a PAP/SAP_{IPO} of 0.44 (0.36–0.50) in positive patients versus 0.34 (0.30–0.45) in negative ones ($p = 0.008$). Postoperative hemodynamics was not related to the presence/absence of viral genomes

in the nasopharynx. Postoperative PAP/SAP was positively correlated with post-cardiopulmonary bypass levels of interleukin-1 receptor antagonist ($p = 0.026$), macrophage migration inhibitory factor ($p = 0.019$), and monocyte chemoattractant protein-1 ($p = 0.031$), particularly in patients with positive tracheal aspirates.

Conclusions: Pediatric patients undergoing surgery for congenital heart septal defects carrying respiratory viral genomes in the lower airways are at a higher risk for postoperative pulmonary hypertension, deserving special attention in terms of prophylaxis, testing, and perioperative care.

Keywords: Congenital heart disease. Respiratory viruses. Pulmonary hypertension. Pediatric cardiac surgery. Postoperative inflammatory response. Pediatric intensive care.

Listas

Lista de Figuras

Figura 1	O microambiente indivisível com proximidade anatômica entre via aérea distal e os vasos pulmonares.....	38
Figura 2	Representação esquemática dos pressupostos do estudo.....	45
Figura 3	Fórmula para cálculo do VIS.....	58
Figura 4	“Dot blots” representativos do procedimento de detecção e semiquantificação de mediadores inflamatórios séricos.....	61
Figura 5	Resumo dos passos seguidos na coleta das informações.....	65
Figura 6	Etapas de seleção segundo banco de dados do Serviço de Cirurgia de Cardiopatias Congênitas.....	69
Figura 7	Pressão média arterial pulmonar e pressão média arterial sistêmica, antes e após a circulação extracorpórea (CEC).....	74
Figura 8	Evolução das pressões medias arteriais pulmonar e sistêmica, e da saturação periférica de O ₂ nas primeiras 60 horas de tratamento intensivo pós-operatório, para toda a coorte (60 indivíduos)	80
Figura 9	Distribuição dos vírus detectados em material aspirado de nasofaringe.....	81
Figura 10	Distribuição dos vírus detectados em material aspirado de traqueia.....	82
Figura 11	Comportamento da pressão média arterial pulmonar (PAP), pressão média arterial sistêmica (PAS), da razão PAP/PAS e da saturação periférica de oxigênio (SpO ₂), nas primeiras 12 horas do período pré-operatório, analisado comparativamente em pacientes portadores e não portadores de material genético de vírus respiratórios em amostras de nasofaringe.....	85
Figura 12	Comportamento da pressão média arterial pulmonar (PAP), pressão média arterial sistêmica (PAS), da razão PAP/PAS e da saturação periférica de oxigênio (SpO ₂), nas primeiras 12 horas do período pré-operatório, analisado comparativamente em pacientes portadores e não portadores de material genético de vírus respiratórios, em amostras de traqueia.....	86

Figura 13	Efeito da saturação periférica de oxigênio pré-operatória e da presença/ausência de material genético de vírus respiratórios em traqueia, sobre a hemodinâmica pulmonar e sistêmica no início do período pós-operatório.....	92
Figura 14	Associação entre a presença de Rinovírus em material aspirado de traqueia e comportamento hemodinâmico da pressão arterial pulmonar no pós-operatório inicial, caracterizado pela variável PAP/PAS _{POI} conforme definido.....	93
Figura 15	Influência interativa dos genomas virais respiratórios e da hemodinâmica pós-operatória precoce (razão pressão média arterial pulmonar/sistêmica - PAP/PAS _{POI} , conforme definido) sobre a pressão sistólica arterial pulmonar seis meses após a alta hospitalar.....	101

Lista de Tabelas

Tabela 1	Mediadores inflamatórios analisados no estudo.....	61
Tabela 2	Dados antropométricos, demográficos e de diagnósticos amostrais em 60 pacientes.....	70
Tabela 3	Dados intraoperatórios.....	73
Tabela 4	Tempos registrados para amostra total.....	76
Tabela 5	Tempos registrados segundo ocorrência de eventos.....	76
Tabela 6	Dados laboratoriais evolutivos.....	78
Tabela 7	Análise comparativa da positividade para material genético de vírus respiratórios em amostras de nasofaringe e de traqueia.....	83
Tabela 8	Dados comparativos pré e intraoperatórios entre portadores e não portadores de material genético de vírus, em material aspirado de traqueia.....	88
Tabela 9	Variáveis com potencial impacto na hemodinâmica do período pós-operatório inicial: análise univariada.....	91
Tabela 10	Variáveis com potencial impacto na hemodinâmica do período pós-operatório inicial: análise multivariada.....	92
Tabela 11	Mediadores inflamatórios na situação pré-operatória.....	94
Tabela 12	Mediadores inflamatórios quatro e 24 horas após a circulação extracorpórea comparativamente aos níveis basais.....	96
Tabela 13	Marcadores inflamatórios possivelmente associados ao comportamento hemodinâmico no pós-operatório inicial: análise univariada e bivariada.....	98
Tabela 14	Possíveis preditores de eventos relevantes no pós-operatório: análise univariada.....	100

Lista de abreviaturas e siglas dos vírus respiratórios pesquisados

FluA	Influenza A
FLUB	Influenza B
H1N1	influenza A-sw1 H1N1
Cor63	Coronavírus NL63
Cor229	Coronavírus 229E
Cor43	Coronavírus OC43
HKU	Coronavírus HKU1
HPIV1	Parainfluenza 1
HPIV2	Parainfluenza 2
HPIV3	Parainfluenza 3
HPIV4	Parainfluenza 4
HMPV/A	Metapneumovírus humano A
HMPV/ B	Metapneumovírus humano B
RV	Rinovírus
VSR/A	Vírus Sincial Respiratório A
VSR//B	Vírus Sincial Respiratório B
EV	Enterovírus
HPeV	Parecovírus
HAdV	Adenovírus
HBoV	Bocavírus
Mpneu	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>

Lista de abreviaturas e siglas dos mediadores inflamatórios pesquisados

C5	<i>Complement component 5</i>
C5a	<i>Complement component C5a</i>
G-CSF	<i>Granulocyte-colony stimulating factor</i>
GM-CSF	<i>Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i>
GRO α	<i>Growth-regulated oncogene alpha</i>
I-309	<i>Chemokine I-309</i>
IFN- γ	<i>Interferon-gamma</i>
IL-10	Interleucina 10
IL-12	Interleucina 2
IL-13	Interleucina 13
IL-16	Interleucina16
IL-17	Interleucina 17
IL-17E	Interleucina 17E
IL-1ra	Antagonista do receptor de interleucina 1
IL-1 α	Interleucina 1 alfa
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-2	Interleucina 2
IL-23	Interleucina 23
IL-27	Interleucina 27
IL-32 α	Interleucina 32 alfa
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IP-10	<i>Interferon gamma-induced protein 10</i>
I-TAC	<i>Interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant</i>
MCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein 1</i>
MIF	<i>Macrophage migration inhibitory factor</i>
MIP-1 α	<i>Macrophage inflammatory protein 1 alpha</i>
MIP-1 β	<i>Macrophage inflammatory protein 1 beta</i>
PAI-1	<i>Plasminogen activator inhibitor 1</i>

RANTES	<i>Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted</i>
sCD40L	<i>Soluble CD40 ligand</i>
SDF-1	<i>Stromal cell-derived factor 1</i>
Serpin E1	<i>Serine protease inhibitor E1</i>
sICAM-1	<i>Soluble intercellular adhesion molecule 1</i>
sTREM	<i>Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells</i>
TNF- α	<i>Tumor necrosis factor-alpha</i>

Lista de símbolos e medidas

cm	Centímetro
cm/s	Centímetros por segundo
°C	Graus Celsius
%	Porcentagem
>	Maior
<	Menor
Kg	Quilograma
mcg/Kg/min	Microgramas por quilograma por minuto
mmHg	Milímetros de mercúrio
μ L	Microlitros
mL	Mililitro
ppm	Partes por milhão
uip	Unidades de intensidade de pixels
U x m ²	Unidades Wood vezes metro quadrado

Sumário

1.	Introdução.....	27
2.	Revisão de Literatura.....	31
2.1	Mecanismos patogênicos do remodelamento vascular pulmonar: anatomia das lesões e vasoconstrição.....	32
2.2	Mecanismos biomoleculares do remodelamento vascular: fatores de crescimento e resposta inflamatória.....	34
2.3	Dos fatores intraútero e pós-natais ao cenário pré-operatório: o ponto de partida para potenciais transtornos pós-cirúrgicos.....	35
2.4	A unidade respiratória e seus componentes: um microambiente indivisível.....	37
2.5	A possível participação de agentes infecciosos no remodelamento de via aérea e vascular.....	38
2.6	Comportamento da vasculatura pulmonar frente ao uso da circulação extracorpórea para o reparo de cardiopatias congênitas.....	39
2.7	O período pós-operatório: incidência de complicações e prognóstico.....	40
3.	Base racional.....	43
4.	Objetivos.....	48
4.1	Objetivo primário.....	48
4.2	Objetivos secundários.....	47
5.	Métodos.....	48
5.1	Tipo de estudo.....	49
5.2	Hipótese.....	49
5.3	Cálculo amostral.....	49
5.4	Casuística.....	50
5.5	Critérios de inclusão.....	50
5.6	Critérios de não inclusão.....	51
5.7	Critérios de exclusão.....	52

5.8	Dados demográficos, antropométricos e diagnósticos.....	52
5.9	Dados ecocardiográficos funcionais.....	53
5.10	Dados do período intraoperatório.....	54
5.11	Dados do período pós-operatório: registros gerais.....	55
5.11.1	Registros específicos: desfechos do estudo.....	56
5.11.2	Aplicação de escore de drogas vasoativas.....	58
5.11.3	Eventos cardiorrespiratórios e hemodinâmicos.....	58
5.12	Dados laboratoriais gerais.....	59
5.13	Dados laboratoriais específicos	60
5.13.1	Coleta e processamento de material para a determinação de mediadores inflamatórios do soro.....	60
5.13.2	Coleta e processamento de material para análise de vírus respiratórios.....	62
5.14	Avaliação hemodinâmica após a alta hospitalar como objetivo secundário.....	63
5.15	Obtenção de dados: cuidados para não ocorrência de vieses na obtenção dos resultados.....	64
5.16	Fluxograma para coleta de dados.....	65
5.17	Análise estatística.....	65
6.	Resultados.....	67
6.1	Análise descritiva.....	68
6.1.1	Seleção de pacientes, dados demográficos, antropométricos, história e de avaliação diagnóstica pré-operatória.....	68
6.1.2	Dados intraoperatórios	72
6.1.3	Dados gerais do período pós-operatório	75
6.1.4	Dados laboratoriais gerais.....	77

6.1.5	Evolução da pressão média arterial pulmonar, pressão média arterial sistêmica e da saturação periférica de oxigênio no período pós-operatório.....	79
6.2	Análise Inferencial.....	80
6.2.1	Detecção de material genético de vírus.....	80
6.2.2	Análise do desfecho primário: vírus respiratórios e curvas pressóricas no período pós-operatório.....	83
6.2.3	Dados pré e intraoperatórios comparativos entre grupos caracterizados pela presença ou ausência de material genético de vírus respiratórios em traqueia.....	87
6.2.4	Desfecho relacionado ao objetivo primário: o comportamento da variável PAP/PAS _{POI}	89
6.2.4.1	Fatores implicados na hemodinâmica pós-operatória inicial.....	89
6.2.4.2	O papel da resposta inflamatória sobre a hemodinâmica pós-operatória.....	93
6.2.5	Eventos hemodinâmicos relevantes no pós-operatório.....	99
6.2.6	Avaliação após a alta hospitalar.....	101
7.	Discussão	102
8.	Conclusões	111
9.	Considerações finais	114
10.	Referências	117
	Anexo A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	131
	Anexo B – Aprovação CAPPesq.....	135
	Anexo C – Dados antropométricos e diagnósticos individuais.....	139
	Apêndice.....	141

1. Introdução

1. Introdução

Pacientes portadores de comunicações entre câmaras cardíacas ou grandes artérias, estão sujeitos a desenvolver alterações vasculares pulmonares que podem variar em gravidade, velocidade de evolução e repercussão clínica ^(1,2). Aproximadamente 25% da população pediátrica com grandes comunicações não restritivas pós-tricuspidéas, apresentam manifestações clínicas de hipertensão pulmonar (HP), podendo esta ser diagnosticada por métodos não invasivos como o exame ecocardiográfico ⁽³⁾. Por comunicação não-restritiva, entenda-se, por exemplo, o diâmetro de uma comunicação interventricular (CIV) maior que 50% do anel aórtico. Outrossim, indivíduos que desenvolvem sinais clínicos de HP avançada, como cianose labial e taquicardia requerem avaliação hemodinâmica invasiva ^(1,4) visando ao adequado planejamento terapêutico, quer seja em relação ao momento de indicação de cirurgia, à técnica cirúrgica escolhida ou a procedimentos relativos ao pós-operatório, como, por exemplo, a indicação de vasodilatadores inalatórios ⁽⁵⁾. As repercussões das alterações na vasculatura pulmonar têm impacto não apenas sobre o planejamento cirúrgico, mas, também, levam a transtornos hemodinâmicos com consequências graves e potencialmente incapacitantes ou letais. Cerca de um a dois por cento dos pacientes com HP apresentam *crises de hipertensão pulmonar* no pós-operatório, situação clínica grave, de iminência de parada cardiorrespiratória ⁽⁶⁾, podendo também ser não letais, resultando, em última análise, em aumento do tempo de permanência na terapia intensiva ^(5,7,8). Além disso, ainda que a correção anatômica ocorra de forma satisfatória, a persistência de hemodinâmica pulmonar alterada, em nosso serviço frequentemente investigada partir

do sexto mês de alta ⁽⁹⁾, pode comprometer o sucesso do tratamento em longo prazo ^(10,11).

Em crianças, o remodelamento vascular pulmonar é um processo complexo que resulta em uma diversidade de alterações, variando em gravidade. Nos primeiros dias, semanas ou meses de vida, as alterações biopatológicas estão relacionadas à muscularização precoce das arteríolas pulmonares, envolvendo hiperplasia e hipertrofia de células musculares lisas em vasos pequenos (com diâmetro inferior a 200 micra) ^(12,13). Evolutivamente, mas em alguns casos de forma mais precoce do que o esperado, ocorrem as lesões mais avançadas, incluindo as oclusivas e outras que alteram profundamente a estrutura do vaso (lesões dilatadas). Os mecanismos biológicos envolvidos neste remodelamento são diversos e têm sido amplamente estudados ⁽¹³⁾. Eles envolvem modificações na composição da matriz extracelular, incluindo deposição e degradação, interações entre a matriz e os receptores de membrana ^(13,14), organização do citoesqueleto, liberação de fatores de crescimento ⁽¹⁵⁾ e ativação de seus receptores, ativação de várias vias de sinalização, modificações fenotípicas, especialmente nas células musculares lisas, e replicação celular ⁽¹⁶⁾. Dentre os muitos mediadores envolvidos nesse processo, elementos inflamatórios ⁽¹⁷⁾ e componentes da resposta imune estão consistentemente presentes. Citocinas, quimiocinas e moléculas correlatas desempenham um papel como fatores de crescimento, contribuindo ativamente para as modificações na matriz extracelular, replicação celular, inibição da apoptose ^(16,17) e recrutamento de células inflamatórias ^(18–20). Ressalte-se que no modelo clínico, os fenômenos que acometem as estruturas vasculares são inseparáveis daqueles que eventualmente incidem sobre células respiratórias e pequenas vias aéreas no microambiente do pulmão distal.

Pacientes pediátricos com comunicações cardíacas e aumento do fluxo sanguíneo pulmonar, em estágios iniciais do processo hipertensivo, onde predomina o estado congestivo, podem ser alvo de infecções respiratórias repetidas, que, em grande parte, são de natureza viral ⁽⁸⁾. São sazonais e frequentes os quadros de bronquite e bronquiolite ^(21,22), sendo o remodelamento de vias aéreas uma das consequências das infecções de repetição ⁽²³⁾. É interessante notar que o processo biológico de remodelamento de pequenas vias aéreas compartilha mecanismos biomoleculares com o desenvolvimento das lesões vasculares típicas da hipertensão pulmonar. Células epiteliais respiratórias infectadas por vírus, expressam citocinas e fatores de crescimento implicados na proliferação de células musculares lisas respiratórias e alterações da matriz extracelular, moléculas estas bastante superponíveis às envolvidas na patogênese da vasculopatia pulmonar ^(18,23,24). Tais alterações têm sido amplamente estudadas, por exemplo, na fisiopatologia da asma ^(24,25). O microambiente indivisível na periferia dos pulmões, leia-se ácino pulmonar, constitui o substrato básico para se admitir que processos biológicos acometam concomitantemente vias aéreas e vasos, sendo uma distinção meramente didática. A base racional para o planejamento do presente estudo foi a consideração de que pacientes com “*shunts*” cardíacos e exposição a agentes infecciosos, sobretudo virais, estariam sob risco de alterações vasculares pulmonares que, no contexto do período pós-operatório de cirurgia cardíaca, os tornariam predispostos a alterações hemodinâmicas mais importantes.

Em se estabelecendo esta associação, poder-se-ia aventar implicações imediatas no que tange à prevenção de infecções respiratórias, e terapêuticas, como critérios de indicação da cirurgia cardíaca em tempo anterior ao habitual. Esta tese foi então

idealizada com o objetivo de se identificar possível associação entre a presença de material genético de vírus respiratórios em vias aéreas, e o comportamento hemodinâmico pulmonar na unidade intensiva após a cirurgia cardíaca.

2. Revisão de Literatura

2.1. Mecanismos patogênicos do remodelamento vascular pulmonar: anatomia das lesões e vasoconstrição

As lesões vasculares pulmonares em cardiopatias congênitas foram inicialmente classificadas de maneira qualitativa em seis graus, contemplando a hipertrofia da camada média arterial e arteriolar, a proliferação intimal de magnitude variável (podendo chegar à oclusão vascular) e lesões mais complexas ^(26,27). Estas últimas incluem lesões plexiformes, dilatadas e arterite necrotizante ⁽²⁸⁾. Na maioria dos casos, sobretudo em pacientes de baixa idade, predominam vasos com hipertrofia medial apenas, ou com lesões intimais não oclusivas. Subsequentemente, uma classificação morfométrica, procurou quantificar o número de vasos em relação aos alvéolos entre outras medidas avaliadas ⁽²⁷⁾, dado importante principalmente em recém-nascidos e lactentes jovens. Assim, a hipertrofia vascular pulmonar e a vasoconstrição, são elementos centrais no desencadeamento de transtornos hemodinâmicos graves, além de serem o alvo das intervenções que visam ao remodelamento reverso, já estudado em modelos experimentais ⁽²⁹⁾ após a correção da cardiopatia ⁽¹⁴⁾. Quando considerado o período neonatal, há fatores intrauterinos que podem favorecer a persistência de elevada resistência vascular pulmonar (RVP). Além de elementos cromossômicos, como a presença de síndrome de Down ^(30,31), a constrição do *ductus arteriosus* por uso materno de anti-inflamatórios não hormonais também exercem papel digno de nota ^(6,32). Quaisquer que sejam os mecanismos etiopatogênicos, a hipertrofia arteriolar pulmonar associada à vasoconstrição persistente pode ser considerada como o retrato fenotípico característico da hipertensão pulmonar nos primeiros dias ou semanas de vida, isolada ou associada a outros processos patológicos ^(6,31,32). A disfunção que envolve células endoteliais e musculares lisas arteriais pulmonares, resultando na tendência à

vasoconstrição, compreende diversas vias de sinalização, como por exemplo, a do óxido nítrico, e a do ácido araquidônico, implicando alterações em nucleotídeos cíclicos, a via da rho-quinase e das endotelinas, todas elas amplamente estudadas na hipertensão pulmonar persistente do recém-nascido (HPP) ^(6,33).

A hipóxia, presente em inúmeras situações clínicas como distúrbios respiratórios neonatais ⁽³⁴⁾, alterações de ventilação pulmonar prevalentes em pacientes com trissomia do cromossomo 21 ⁽³⁵⁾ e eventos do período pós-operatório imediato de cardiopatias congênitas ^(36–38), também pode exercer papel importante no remodelamento vascular pulmonar e na vasoconstrição ^(33,34). Nesse sentido, os mecanismos biomoleculares da doença vascular pulmonar têm sido alvo de estudos recentes. Têm sido analisadas alterações em vias mediadas pelo fator HIF-1 α /HIF-1 β (fator induzido por hipóxia) ^(39,40), que acarretam disfunção mitocondrial, inibição da piruvato-desidrogenase-quinase (PDK) e expressão de diversos outros genes implicados com replicação celular ^(41,42). É demonstrado que este fator está envolvido na hipertrofia da camada média arteriolar entre outros eventos biopatológicos. Além disso, a hipóxia altera o estado REDOX ^(43,44) em células musculares lisas vasculares pulmonares, com modificação no equilíbrio da glutathiona (GSH/GSSH) ^(45–47), despolarização de membrana e vasoconstrição. Mutações genéticas também podem estar envolvidas no mecanismo de vasoconstrição, no sentido de sinalização defectiva a partir de receptores de TGF- β (fator de desenvolvimento transformador tipo β) ⁽⁴⁸⁾ e diversas vias correlatas ⁽⁴²⁾. Alterações implicando esta via têm sido descritas na doença vascular pulmonar experimental e humana. Na doença cardíaca congênita, assim como na hipertensão pulmonar persistente do neonato, são também descritas variantes genéticas da enzima

mitocondrial carbamil-fosfato sintetase I (CPS-I) implicadas com a biodisponibilidade de L-arginina (e do óxido nítrico e derivados) e, conseqüentemente, acarretando vasoconstrição pulmonar ^(48,49).

2.2. Mecanismos biomoleculares do remodelamento vascular: fatores de crescimento e resposta inflamatória

Além dos fatores mencionados, outras classes de mecanismos têm sido objeto de investigações no campo da biopatologia vascular em geral, e no remodelamento vascular pulmonar em particular ^(49,50). Este elenco de elementos biológicos inclui fatores peptídicos de crescimento (“*growth factors*”) ^(17,18,51), seus receptores e vias de sinalização, micro “RNA’s” que operam como moléculas sinalizadores ^(52–54), oncogenes ⁽⁵⁵⁾, enzimas intracelulares como quinases e fosfatase e seus substratos ^(56–58), proteínas de matriz extracelular e seus receptores (integrinas e outras) ⁽⁵⁹⁾, além de proteases pericelulares. Estes são apenas alguns exemplos entre muitos em estudo. Hoje sabe-se que citocinas, quimiocinas e outros elementos de resposta inflamatória e imune ^(25,60), assim como proteínas a eles relacionadas, também operam no processo de remodelamento vascular. Diversas citocinas têm sido descritas desempenhando papel na modificação estrutural da matriz extracelular, diferenciação e replicação de células vasculares, assim como na inibição da apoptose ^(61,62). Entre elas podem ser citadas a interleucina (IL) 1 β , IL-6 ⁽⁶³⁾, MCP-1 (“*monocyte chemoattractant protein-1*”), a quimiocina CCL5/RANTES (“*regulated on activation, normal T cell expressed and secreted*”) e o fator de necrose tumoral α (TNF- α) ⁽⁶⁴⁾. Componentes de resposta imune Th1, Th17, Th2 e Treg ^(61,65) também estão implicados na biopatologia vascular pulmonar. Em nosso grupo de estudo, foi identificada a associação da proteína MIF (“*macrofage*

migration inhibitory fator”) com o fenótipo “hipertrofia arterial pulmonar” em lactentes portadores de “shunts” cardíacos congênitos e resistência vascular pulmonar elevada, e em relação a variantes genéticas da enzima mitocondrial CPS-I⁽⁴⁹⁾. A proteína MIF é considerada como um ligante não canônico de receptores de quimiocinas, com inúmeras ações em processos biológicos vasculares, notadamente pulmonares, estando implicada na proliferação de células musculares lisas e inibição de apoptose, tanto em modelos experimentais como na doença humana^(66,67).

2.3. Dos fatores intraútero e pós-natais ao cenário pré-operatório: o ponto de partida para potenciais transtornos pós-cirúrgicos

Dentre os fatores que jogam papel nas alterações da vasculatura pulmonar típicas da hipertensão pulmonar, há condições relacionadas ao período perinatal e outras que se estabelecem ao longo da vida da criança. Algumas situações que tipicamente envolvem alterações vasculares antes da cirurgia com potencial impacto na evolução pós-operatória, são de ordem congênita. Pacientes com trissomia do cromossomo 21 (T21) têm fenótipo com alterações implicados tanto em vasos como vias aéreas distais tais como redução do número de alvéolos; duplicação de capilares^(30,35) entre outras características que podem levar à hipoxia e, portanto, a potencialização de fatores de remodelamento vascular^(30,31), além da própria malformação cardíaca.

Elementos genéticos representados, por exemplo, pelo polimorfismo da enzima NO sintetase endotelial (eNOS)^(68,69) e pelo polimorfismo da enzima mitocondrial carbamil-fosfato sintetase I (CPSI) também estão implicados com o desenvolvimento de HP^(49,70). Existe, ainda, relação entre a produção do fator inibidor da migração de macrófagos (MIF) e o polimorfismo da CPSI, lembrando que, como anteriormente citado,

pacientes pediátricos com HP têm MIF aumentado ^(49,71). É procedente suscitar que alguns fenótipos podem, inclusive, influenciar a resposta vasodilatadora pulmonar a drogas inalatórias como o NO ^(71,72). Cabe ressaltar que pacientes com T21 também podem ter resposta vasodilatadora a drogas inalatórias prejudicada, o que se justifica pelas características anatômicas que levam a hipoventilação ^(30,73).

Dentre as condições relacionadas ao período pós-natal que podem implicar em hipoxia transitória ou prolongada, estão, por exemplo, a aspiração de mecônio ou a síndrome da membrana hialina. Essas condições, com mecanismos já descritos em literatura ^(32,74), tem potencial impacto na evolução da hipertensão pulmonar do recém-nascido (PPHN, em língua inglesa), seja pelo envolvimento do fator induzido por hipoxia (HIF) na manutenção do padrão fetal da vasculatura pulmonar, seja pela produção de mediadores idiossincrásicos à condição patológica do parênquima pulmonar distal ⁽⁷⁵⁾.

Fatores ainda não totalmente elucidados podem relacionar-se de forma negativa com a evolução pós-operatória. O papel das infecções pulmonares na liberação de moléculas envolvidas no remodelamento de vias aéreas já foi descrito em literatura ^(76,77). Resta saber se, com o defeito cardíaco tratado, essas alterações impostas pela história de infecções ao longo do período que antecede a cirurgia, podem ter papel na evolução do comportamento hemodinâmico pulmonar.

Em conjunto todos esses elementos, sua somatória e intensidade de manifestações, constituem a base estrutural e funcional pré-operatória para os transtornos respiratórios e hemodinâmicos que incidirão no momento pós cirúrgico, acrescentando-se os eventos decorrentes da cirurgia em si.

2.4. A unidade respiratória e seus componentes: um microambiente indivisível

A estrutura anatômica conhecida como “unidade respiratória” compreende bronquíolos respiratórios, ductos alveolares e alvéolos ^(78,79). Saliente-se que as arteríolas que acompanham a dicotomização da unidade respiratória recebem o nome da estrutura que as acompanha, como por exemplo, arteríola do bronquíolo terminal, arteríola do bronquíolo respiratório, arteríola do ducto alveolar (Figura 1). Dessa forma, as estruturas que compõem a unidade respiratória são contíguas formando, na periferia dos pulmões, um microambiente anatômica e fisiologicamente indivisível. Este microambiente é alvo de processos inflamatórios com liberação de mediadores químicos que têm papel na fisiopatologia de alterações de via aérea, como broncoespasmo ^(80–83), mas também podem estar implicados em alterações vasculares ^(76,84). Cabe lembrar que a reação inflamatória envolvida nas alterações vasculares da hipertensão pulmonar, têm componentes presentes no espaço perivascular ⁽⁸⁵⁾. Tal observação permite admitir que processos infecciosos acometendo o tecido alveolar, por contiguidade, proximidade anatômica e compartilhamento de mediadores químicos, podem ter papel no remodelamento de vasos.

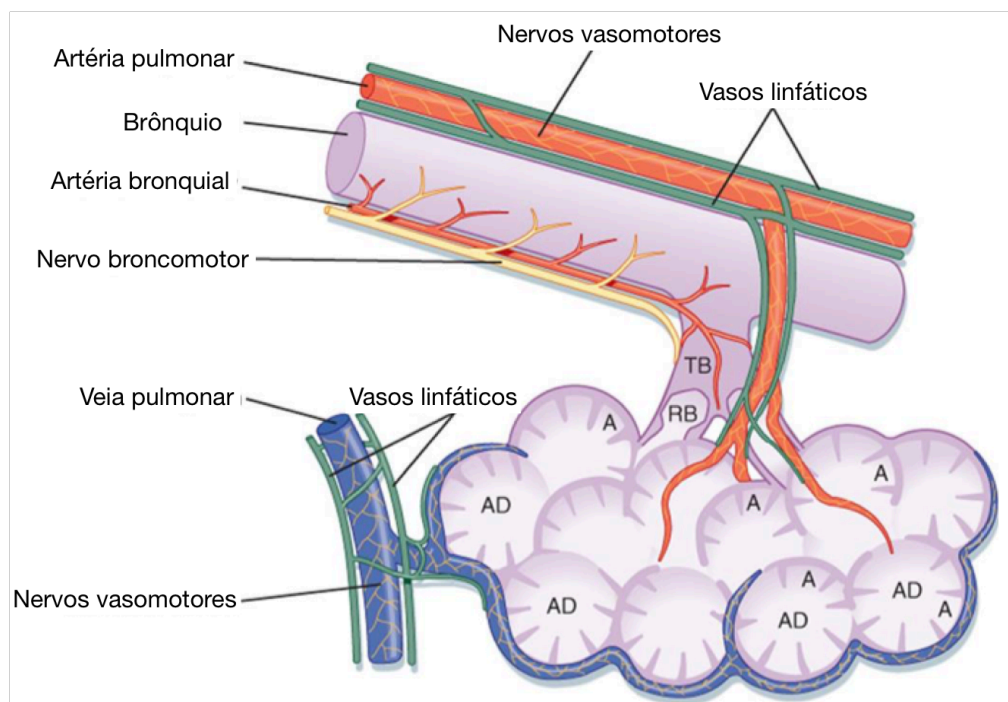


Figura 1 – O microambiente indivisível com proximidade anatômica entre via aérea distal e os vasos pulmonares. TB: bronquíolo terminal; RB: bronquíolo respiratório; AD: ducto alveolar; A: alvéolo – adaptado de Berne e colaboradores, 2010 ⁽⁸⁶⁾.

2.5. A possível participação de agentes infecciosos no remodelamento de via aérea e vascular

O envolvimento de agentes infecciosos na gênese de processos vasculares tem sido amplamente estudado, podendo ser citados, por exemplo, o herpes vírus e o citomegalovírus em associação com aterosclerose ^(87,88), e, ainda, o vírus HIV em associação com a hipertensão pulmonar ⁽⁸⁹⁾. Especialmente na população pediátrica portadora de defeitos septais cardíacos, cresce a importância de investigar a possível associação entre processos infecciosos respiratórios e alterações vasculares pulmonares, justificada pela alta incidência de infecções virais nesta população. Alguns vírus respiratórios têm sido citados como implicados na gênese da displasia broncopulmonar e potencialmente, em complicações relacionadas à asma ^(81,82,90–92). Fatores de crescimento

relacionados à angiogênese (por exemplo, o *vascular endothelial growth factor*, VEGF) podem ser induzidos a partir de células infectadas por vírus ^(76,84,93) contribuindo para o remodelamento da via aérea ^(24,66,93). Células epiteliais respiratórias infectadas por vírus são capazes de expressar ou induzir a expressão de citocinas e fatores de crescimento com impacto no comportamento biológico de elementos celulares vasculares vizinhos: diferenciação e desdiferenciação celular, proliferação, indução ou inibição de apoptose, entre outros fenômenos que também tem papel na origem da hipertensão pulmonar. Sabe-se que células epiteliais infectadas pelo vírus sincicial respiratório (VSR) expressam grandes quantidades da quimiocina RANTES (CCL5) ⁽⁹⁴⁾, com papel já demonstrado na gênese tumoral e remodelamento vascular ⁽⁹⁵⁾, entre outros processos. Igualmente os Rinovírus são capazes de induzir a expressão de RANTES, da interleucina 8 (IL-8 ou CXCL8) e da proteína induzida por interferon 10 (IP10 ou CXCL10) ^(94,96), esta última criticamente implicada na proliferação de células musculardes lisas vasculares ^(77,94,97).

2.6. Comportamento da vasculatura pulmonar frente ao uso da circulação extracorpórea para o reparo de cardiopatias congênitas

A resposta inflamatória que se segue ao uso da circulação extracorpórea é bastante conhecida tanto no contexto do tratamento cirúrgico de adultos cardiopatas como na população pediátrica ^(98,99). Esta resposta tem caráter sistêmico, implicando a disfunção de múltiplos órgãos. Na população pediátrica, há esforços no sentido de caracterizá-la como fator de risco para o desenvolvimento da assim chamada síndrome de resposta inflamatória sistêmica (“SIRS”, em língua inglesa), além de elaborar propostas e estratégias terapêuticas ^(99,100). Investigações tem tido como foco mecanismos envolvendo, por exemplo, o sistema complemento ⁽¹⁰¹⁾, a produção de

cininas, tromboxane, prostaglandinas e leucotrienos, além de citocinas pró e anti-inflamatórias ⁽¹⁰²⁾, produtos de liberação plaquetária, geração de trombina e de outras proteases ^(99,103,104).

Na população pediátrica, diversos efeitos da reação inflamatória após a circulação extracorpórea vêm sendo estudados com foco no dano tecidual ^(105–107). Por exemplo, produtos de oxidação lipídica são utilizados como marcadores de estresse oxidativo e investigados em relação a eventos lesionais ⁽¹⁰⁷⁾. Nos pulmões, alterações alvéolo-capilares têm sido relacionadas à expressão local de determinados “micro-RNAs” ⁽¹⁰⁸⁾. Além disso, tem sido ressaltado o papel lesivo de serino proteases liberadas por neutrófilos polimorfonucleares sobre a membrana alvéolo-capilar, resultando em síndrome do desconforto respiratório agudo (SARA ou PARDS, em língua inglesa) ⁽¹⁰⁷⁾. Entretanto, a literatura é escassa com respeito aos efeitos desta resposta inflamatória exacerbada sobre a vasculatura pulmonar, no período que se segue à cirurgia cardíaca pediátrica. Enfatize-se que a esta resposta, somam-se elementos pós-operatórios com impacto sobre o comportamento da circulação pulmonar como a hipóxia, a acidose, a hipercapnia, e estímulos dolorosos, além de outros, que podem ser considerados verdadeiros gatilhos para a vasoconstrição ^(107,109).

2.7. O período pós-operatório: incidência de complicações e prognóstico

Pacientes pediátricos operados de cardiopatias congênitas que causam repercussão sobre a hemodinâmica pulmonar são alvo de estudo tanto pela frequência das complicações pós-operatórias, quanto por suas consequências. Os modelos preditores de desfecho mais utilizados em cirurgia cardíaca, como RACHS (*Risk Adjustment Congenital Heart Surgery*), STS (*Society of Thoracic Surgeons*), IQIC

(*International Quality Improvement Collaborative*), englobam a hipertensão pulmonar como fator de risco para o desenvolvimento de complicações graves e tempo prolongado de internação^(40,110,111). São fatores associados a alta mortalidade no período pós-operatório de cardiopatias congênitas a presença de síndrome genética, baixo peso, falência cardíaca e ventilação mecânica prolongada⁽¹¹¹⁾. Observe-se que estas, são elencadas como características associadas a pacientes com hipertensão pulmonar.

A ocorrência de eventos graves com necessidade de ajuste de drogas ou resgate com manobras de ressuscitação, não é infrequente nesse período. Publicação recente em nosso grupo mostrou haver relação entre a pressão arterial pulmonar nas primeiras horas de pós-operatório, inflamação e a ocorrência de eventos cardiorrespiratórios e hemodinâmicos relevantes^(112,113). Notadamente, situações como hipóxia e acidose, algo típicas neste período, podem atuar como mecanismos “gatilho” para a vasoconstrição pulmonar^(13,114), e assim intensificar eventos graves com potenciais sequelas cardíacas, respiratórias e neurológicas.

O manejo hemodinâmico do paciente com HP envolve ajustes de drogas vasoativas, volemia, equilíbrio eletrolítico e uso de sedação⁽¹¹⁵⁾. Neste cenário, a hipertensão pulmonar tem sido descrita como um dos fatores determinantes do prolongamento do tempo de ventilação mecânica no pós-operatório^(110,116,117). Dessa forma, esses pacientes tornam-se suscetíveis às complicações associadas ao prolongamento do uso da ventilação artificial, como infecções pulmonares, pneumotórax, lesões traqueais e lesão pulmonar induzida pela ventilação mecânica (VILI, em língua inglesa)^(38,115,116). Todas estas associadas ao aumento do tempo de internação hospitalar^(118,119).

A disfunção ventricular, o risco de parada cardiorrespiratória, o tempo prolongado de ventilação mecânica e suas complicações, assim como o longo período de internação hospitalar faz, dessa população, grande vereda de conhecimento a ser elucidado, visando à minimização das sequelas e à identificação de potenciais fatores de risco para morbidade e mortalidade.

3. Base racional

3. Base racional do estudo

Em crianças portadoras de defeitos septais cardíacos congênitos, é importante ressaltar que quaisquer que sejam os fatores perioperatórios com impacto sobre a circulação pulmonar, eles atuarão sobre um cenário de alterações pré e pós-natais onde coabitam vasos e vias aéreas previamente remodelados. Ressalte-se que isso ocorre em pacientes repetidamente expostos a agentes biológicos que acometem vias aéreas, capazes de deflagrar respostas com potencial efeito sobre vasos pulmonares.

Este é, portanto, o terreno sobre o qual as circunstâncias perioperatórias atuarão como “gatilho” no desencadeamento da resposta vascular. Assim sendo, este estudo visa à identificação de possível associação entre a presença de material molecular correspondente à infecção por vírus respiratórios (pré-operatória, não suspeitada) e o comportamento pós-operatório da circulação pulmonar. Além das potenciais implicações de ordem etiopatogênica e fisiopatológica, tais informações poderão ser importantes para a futura elaboração de estratégias que visam à prevenção de complicações nesta população. A representação esquemática dos pressupostos do estudo encontra-se demonstrada na Figura 2.

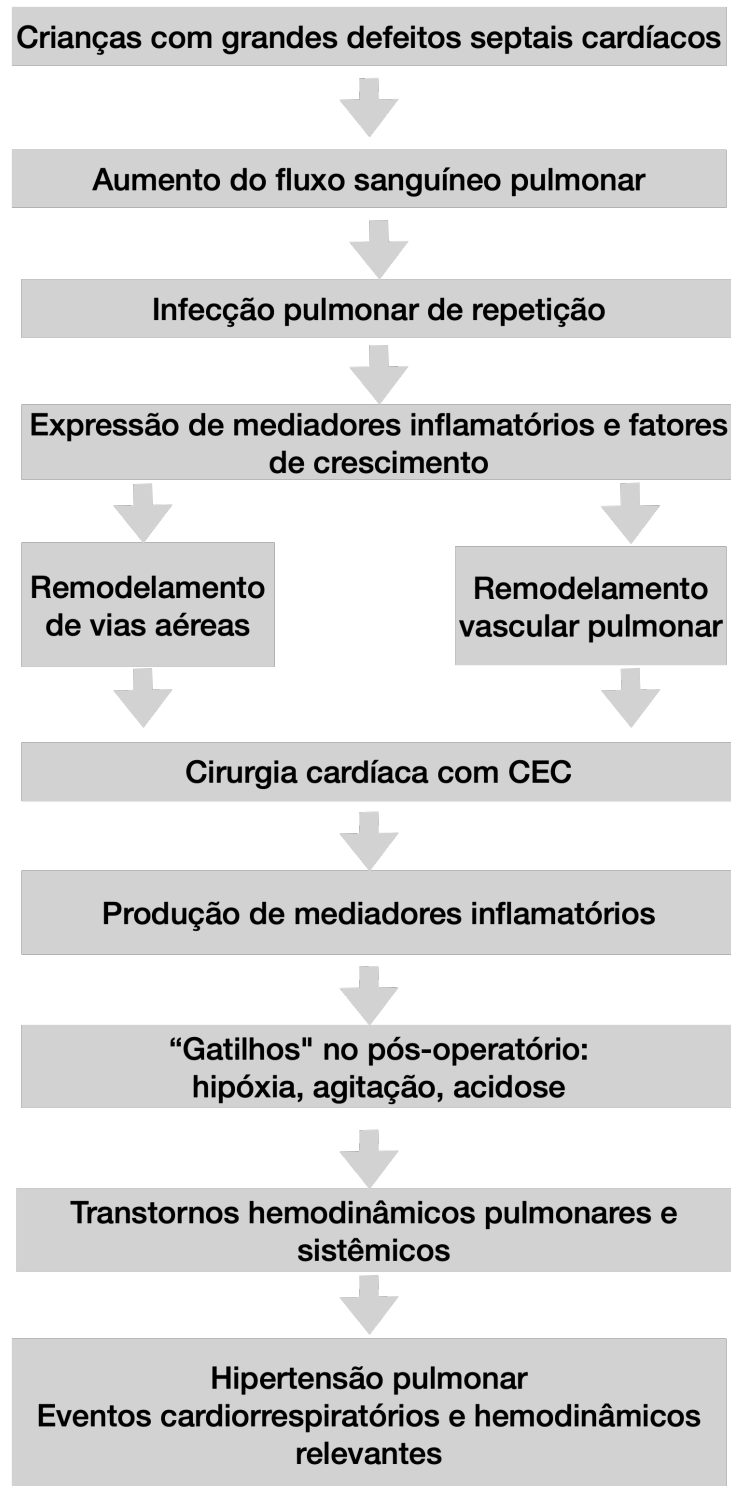


Figura 2 – Representação esquemática dos pressupostos do estudo.
CEC: circulação extracorpórea

4. Objetivos

4.1. Objetivo primário

Verificar, em pacientes pediátricos com “*shunts*” cardíacos não restritivos, a existência de possível diferença no comportamento hemodinâmico pulmonar no período pós-operatório de cirurgia corretiva, entre portadores e não portadores de material genético de vírus respiratórios em vias aéreas.

Desfechos

1. Pressão arterial pulmonar em relação à sistêmica no início do pós-operatório.
2. Curvas de pressão arterial pulmonar e sistêmica nas primeiras 12 horas de cuidados intensivos pós-operatórios.

4.2. Objetivos secundários

1. Identificar possíveis preditores de eventos clínicos relevantes (pré-definidos) no período pós-operatório.
2. Identificar relação entre perfil hemodinâmico pós-operatório e mediadores inflamatórios presentes na circulação.
3. Analisar, de forma descritiva, os tipos virais correspondentes ao material genético presente em vias aéreas alta e baixa.
4. Identificar preditores da condição hemodinâmica pulmonar após a alta hospitalar.

5. Métodos

5.1. Tipo de estudo

Trata-se de estudo prospectivo de coorte, com observações de caráter longitudinal, envolvendo comparações entre grupos.

5.2. Hipótese

Pacientes portadores de material genético viral em vias aéreas, fora de estado infeccioso, apresentarão curso pós-operatório imediato com níveis tensionais em circulação pulmonar superiores àqueles sem genomas virais no contexto do painel utilizado.

5.3. Cálculo amostral

Tendo como medida de desfecho primário a razão pressão média arterial pulmonar/ pressão média arterial sistêmica (PAP/PAS), foi feita análise comparativa entre os dois grupos especificados. O procedimento estatístico escolhido foi a aplicação de modelo misto de análise de variância.

Fator explicativo: presença versus ausência de material genético viral em vias aéreas: variável categórica com dois níveis.

Ferramenta estatística a ser utilizada: modelo misto de análise de variância.

- Média esperada da razão PAP/PAS no primeiro grupo: 0,43
- Média esperada da razão PAP/PAS no segundo grupo: 0,37
- Desvio padrão esperado nos grupos: 0,10
- Número de grupos: 2
- Número de medidas: 7

- Magnitude da diferença a ser demonstrada (parâmetro f): 0,30.
- Poder proposto ($1 - \beta$): 0,80
- Nível de significância α : 0,05
- Poder real: 0,8014
- Número de pacientes: 52

5.4. Casuística

Foram incluídos lactentes e crianças de até 3 anos de idade, liberados para cirurgia de defeitos septais cardíacos não restritivos, ou grandes comunicações entre os vasos da base, atendidos na Unidade Clínica de Cardiologia Pediátrica e Cardiopatias do Adulto do Instituto do Coração, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os pacientes foram incluídos mediante concordância com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e sua assinatura, pelo familiar responsável. O protocolo de estudo teve aprovação do comitê de ética e pesquisa da USP, com certificado de apresentação de apreciação ética (CAAE) número 25940919.5.0000.0068, e suporte financeiro da fundação de amparo à pesquisa (FAPESP) número 2019/19289-7.

5.5. Critérios de inclusão

Foram considerados os seguintes critérios para inclusão de pacientes no estudo:

- Coração com fisiologia biventricular;
- Comunicações não restritivas entre câmaras cardíacas e/ou grandes artérias na ausência de lesões obstrutivas ao fluxo pulmonar, com elementos de história

clínica e exame físico, assim como exames subsidiários básicos (radiografia de tórax, eletrocardiograma), sugestivos de aumento da pressão no território vascular pulmonar (hipertensão pulmonar);

- Presença de pelo menos dois dos seguintes elementos indicativos de repercussão hemodinâmica relevante: a) sinais de dispneia com sinais clínicos e radiográficos de congestão pulmonar e aumento da área cardíaca; b) presença de fluxo sanguíneo bidirecional através das comunicações cardíacas, compatível com elevação de pressões nas câmaras direitas (demonstrado em ecocardiografia transtorácica); c) saturação periférica de oxigênio inferior a 93% de forma transitória ou sustentada;
- Elementos de ecocardiografia transtorácica sugestivos de cardiopatia com repercussão significativa sobre a circulação pulmonar: a) pressão sistólica arterial superior a 40 mmHg quando for possível sua aferição; b) gradiente pouco expressivo através dos defeitos septais, comprovando sua característica não restritiva; c) aumento de câmaras cardíacas esquerdas, compatível com o incremento do retorno venoso pulmonar.

5.6. Critérios de não inclusão

Os pacientes com indicação de cirurgia cardíaca pediátrica que não foram incluídos no estudo preenchem os seguintes critérios:

- Idade inferior a um mês (recém-nascidos);
- Presença de síndromes, exceto síndrome de Down;

- Presença de comorbidade relevante, como doença crônica evolutiva ou condição pediátrica desfavorável, com internação em unidade hospitalar intensiva e indicação cirúrgica na mesma internação;
- Corações com fisiologia univentricular, ou anomalias complexas sem a perspectiva de reparo cirúrgico completo (alta probabilidade de alterações anatômicas e hemodinâmicas residuais significantes);
- História clínica recente de processos inflamatórios ou infecciosos, sobretudo os que acometem vias aéreas;
- Pacientes fora de perspectiva de tratamento cirúrgico por quaisquer razões;
- Não concordância com os termos do Consentimento Livre e Esclarecido.

5.7. Critérios de exclusão

Foram considerados os seguintes critérios para exclusão de pacientes no estudo:

- Intercorrências pediátricas de natureza diversa, sobretudo infecciosas, que dificultassem ou impedissem a progressão para o tratamento cirúrgico após a inclusão;
- Não uso da circulação extracorpórea por quaisquer razões, por exemplo, decisão por procedimento paliativo no curso da cirurgia;
- Perda ou retirada de cateter arterial sistêmico e/ou pulmonar, por quaisquer razões, nas primeiras 72 horas do período pós-operatório, com impossibilidade de registro pressórico;

- Necessidade de nova intervenção cirúrgica ou realização de procedimentos de conhecida repercussão hemodinâmica, ou potencialmente capazes de ampliar o espectro das reações inflamatórias nas primeiras 72 horas após a cirurgia.

5.8. Dados demográficos, antropométricos e diagnósticos

Foram registrados dados demográficos e antropométricos de todos os pacientes, tais como gênero, idade, peso, estatura, presença ou não de síndrome de Down. Também foram computados diagnóstico anatômico, saturação de oxigênio antes da cirurgia, dados de história clínica como fenômenos infecciosos repetitivos com ou sem necessidade de internação. O diagnóstico anatômico foi confirmado por estudo ecocardiográfico, bem como características funcionais da cardiopatia. Todos os pacientes tiveram indicação cirúrgica com base em monitorização não invasiva, não requerendo cateterismo, e foram submetidos a cirurgia corretiva das anomalias anatômicas.

5.9. Dados ecocardiográficos funcionais

Os pacientes incluídos foram submetidos a ecocardiograma com *Doppler* antes da cirurgia e após a circulação extracorpórea (CEC). Foi realizada a descrição anatômica das lesões cardiovasculares, sua repercussão sobre o tamanho e função das câmaras, e medidas visando à análise não invasiva das alterações hemodinâmicas pulmonares e sua repercussão sobre o coração. O ecocardiograma também realizou medidas de parâmetros relacionados a fluxo, resistência vascular e função cardíaca como segue:

Parâmetros relacionados a fluxo e resistência vascular pulmonar e sistêmica:

- PSVD: pressão sistólica do ventrículo direito/artéria pulmonar;

- PAP: pressão média arterial pulmonar;
- Qp/Qs: razão entre fluxos sanguíneo pulmonar e sistêmico;
- VTI: integral velocidade-tempo (determinada na via de saída dos ventrículos direito e esquerdo, e em veias pulmonares);

Parâmetro relacionado à função cardíaca global (direita e esquerda):

- TAPSE: excursão sistólica do anel tricuspídeo.

Os pacientes selecionados tiveram indicação de tratamento cirúrgico baseado fundamentalmente em avaliação diagnóstica não invasiva. Houve raras exceções em que o cateterismo cardíaco foi necessário para orientação em relação ao tratamento. Nestes casos o exame foi indicado de acordo com as diretrizes institucionais, que por sua vez baseiam-se em *guidelines* de sociedades internacionais ⁽⁴⁾.

5.10. Dados do período intraoperatório

Em relação ao procedimento cirúrgico, foram registrados: tipo de operação realizada, permanência de defeitos septais programados ou residuais valvares significantes, tempo de circulação extracorpórea e de anóxia, dificuldades observadas na retirada de CEC, sobretudo aquelas com impacto na hemodinâmica pulmonar, bem como as estratégias terapêuticas utilizadas. Também foi computada a necessidade de hemoderivados, o volume de ultrafiltração modificada, e intercorrências relacionadas à intubação traqueal.

A pressão arterial pulmonar (PAP) sistólica, diastólica e média foi aferida de forma direta, antes e após a CEC, sendo a última medida aferida na vigência de óxido nítrico inalatório. Note-se que as medidas de PAP foram realizadas com estratégia de ventilação

mecânica de rotina ^(120,121), A pressão arterial sistêmica (PAS) foi obtida por cateter arterial periférico. Com o objetivo de registrar parâmetros hemodinâmicos de forma contínua, um cateter foi posicionado em tronco pulmonar após o término da CEC e após a administração de protamina. Ressalte-se que este é um procedimento de rotina para monitoramento hemodinâmico no período pós-operatório de correção de defeitos septais cardíacos não restritivos, quando a avaliação inicial indica a presença de hipertensão pulmonar moderada a acentuada. É efetuado com o objetivo de monitorização hemodinâmica pós-operatória, visando à prevenção e tratamento rápido das instabilidades, não sendo indicado exclusivamente para a finalidade da pesquisa. Para coleta de dados, o cateter foi mantido por aproximadamente dois dias e meio. Em pacientes com hipertensão pulmonar de difícil manejo, o cateter foi mantido por mais de 72 horas, e, então, retirado por via percutânea.

5.11. Dados do período pós-operatório: registros gerais

Na unidade de tratamento intensivo os pacientes foram mantidos em ventilação mecânica, com sedação contínua. Para sedação e analgesia foram utilizados fentanil, midazolam e cetamina, isolados ou em associação, e, para pacientes estáveis, a morfina e a dexmedetomidina. Como agentes vasoativos e inotrópicos foram utilizados milrinone, adrenalina e noradrenalina, isolados ou em associação. Durante todo o período em ventilação mecânica foi utilizada estratégia protetora, com volume corrente de 6ml/kg de peso ⁽¹²²⁾, e óxido nítrico inalatório (NOi), na dose de 20 ppm, salvo em pacientes que necessitaram de ventilação prolongada por razões outras que não a HP. A intubação orotraqueal e ventilação mecânica foram mantidas por pelo menos 72 horas. É importante ressaltar que a administração de NOi acoplado ao circuito da ventilação mecânica, nos

pacientes sob risco de desenvolver instabilidade hemodinâmica pulmonar (e consequentemente sistêmica), constitui procedimento de rotina em nosso serviço. Esta conduta foi adotada em todos os casos, sem que se configurasse procedimento de pesquisa.

Foram registrados: tempo de ventilação mecânica, tempo de internação em terapia intensiva e em unidade de cuidados intermediários, intercorrências hemodinâmicas, e óbitos de qualquer natureza. Para efeito do estudo, também foram computados eventos cardiorrespiratórios e hemodinâmicos significantes.

5.11.1. Registros específicos: desfechos do estudo

As variáveis de desfecho envolveram a pressão da artéria pulmonar e a pressão sistêmica. Foram registrados os valores das pressões sistólica, diastólica e média, da circulação pulmonar e sistêmica, e saturação periférica de oxigênio em intervalos de duas horas ao longo das primeiras 60 horas após a cirurgia cardíaca. Para efeito de análise comparativa entre grupos, foram considerados apenas as primeiras 12 horas de pós-operatório por razões que serão explicitadas. A partir destas medidas, construiu-se curvas de evolução da pressão média arterial pulmonar e da pressão média arterial sistêmica, e da saturação periférica de oxigênio.

Observações em nosso grupo indicaram que os dados pressóricos obtidos nas primeiras horas de evolução pós-operatória têm valor prognóstico em relação à ocorrência de eventos clínicos nos dias subsequentes ⁽¹¹²⁾, e ao comportamento hemodinâmico após a alta hospitalar ⁽¹¹³⁾. Nesse período, os pacientes encontram-se sedados e em ventilação mecânica totalmente controlada, e, portanto, isentos de interferências de natureza algica ou comportamental, e relativamente distantes dos

ajustes volêmicos após a CEC. Este momento inicial na unidade de cuidados intensivos (primeiras 6 a 12 horas) parece único no sentido de se poder registrar o comportamento hemodinâmico pulmonar diretamente, de forma invasiva, com o *shunt* cardíaco eliminado, e, assim sendo, sem interferência do fluxo sanguíneo e das pressões nas câmaras esquerdas. Passadas as primeiras 20 a 24 horas de pós-operatório, as curvas pressóricas tornam-se mais instáveis em virtude de fatores como superficialização do estado de sedação, manobras de fisioterapia e outros estímulos, além do preparo para a descontinuação da ventilação mecânica. Assim sendo, para efeito de comparação entre grupos, curvas pressóricas foram montadas com registros obtidos nas primeiras 12 horas.

Paralelamente, o desfecho primário foi também analisado, por meio da variável PAP/PAS_{POI} (razão pressão média arterial pulmonar/pressão média arterial sistêmica no período pós-operatório mediato). Para tanto, toma-se os quatro primeiros valores da variável PAP/PAS (registros computados a cada duas horas, durante as primeiras seis horas de cuidados pós-operatórios). A seguir, é obtida a média aritmética desses quatro valores (PAP/PAS_{POI} , variável contínua, um valor para cada paciente). Por último, esta variável passa a ser considerada de forma categórica, com valor de corte 0,40, sendo criados dois grupos hemodinâmicos distintos: pacientes com $PAP/PAS_{POI} \leq 0,40$ (grupo estável) e pacientes com $PAP/PAS_{POI} > 0,40$ (comportamento hipertensivo pulmonar). Esta caracterização foi correlacionada em estudo anterior, já publicado, do nosso grupo (112,113) com eventos no pós-operatório.

5.11.2. Aplicação de escore de utilização de drogas vasoativas

Com o objetivo de caracterizar os pacientes em pós-operatório é utilizado em nosso serviço escore para avaliação da quantidade e dose de drogas vasoativas de uso contínuo (VIS – *vasoactive inotropic score*). Tem sido demonstrado em literatura recente a relação do escore VIS com o desfecho de cirurgias cardíacas tanto em adultos quanto na população pediátrica ^(123–125). O cálculo é realizado conforme ilustrado na Figura 3. No presente estudo foram computados valores de VIS no pós-operatório imediato, primeiro e segundo dia de pós-operatório.

$$\text{VIS} = \text{dopamina } (\mu\text{g/kg/min}) + \text{dobutamina } (\mu\text{g/kg/min}) + 100 \times \text{epinefrina } (\mu\text{g/kg/min}) \\ + 10 \times \text{milrinone } (\mu\text{g/kg/min}) + 10000 \times \text{vasopressina } (\text{U/kg/min}) + 100 \times \\ \text{norepinefrina } (\mu\text{g/kg/min})$$

Figura 3 – Fórmula para cálculo do VIS.

5.11.3. Eventos cardiorrespiratórios e hemodinâmicos como objetivo secundário

As chamadas “crises de hipertensão pulmonar” ^(1,7) são acontecimentos raros de acentuada gravidade, com mortalidade ao redor de 20% a 30%. Caracterizam-se por elevação da pressão média arterial pulmonar acima de 75% da sistêmica, diminuição da pressão média arterial sistêmica (superior a 20%) e diminuição na saturação de oxigênio (< 90%) de caráter prolongado ⁽⁴⁾. Ocorrem em menos de 3% das cirurgias cardíacas pediátricas e, portanto, sua utilização como desfecho em estudos com casuísticas pequenas torna-se difícil ^(4,9). Uma série de outros acontecimentos, na unidade de cuidados intensivos, se revestem de importância clínica, porque tem impacto significativo na evolução, na duração da ventilação mecânica, no aparecimento de outras

complicações e no tempo de permanência na unidade. Assim, para efeito deste estudo, foram considerados como EVENTOS PÓS-OPERATÓRIOS RELEVANTES os seguintes tipos de instabilidade: (1) “crises de HP” como supramencionado; (2) instabilidade hemodinâmica implicando períodos de hipotensão sistêmica, em geral associados à razão PAP/PAS inferior a 0,75, e exigindo constantes ajustes de drogas vasoativas; (3) instabilidades que ocorreram de forma repetida ao longo do período (em inglês, *clusters*); (4) instabilidades de qualquer natureza que demandem manobras de ressuscitação. É importante observar que elevações agudas da pressão pulmonar e a diminuição na saturação de oxigênio (duração de segundos), prontamente revertidas por ventilação manual com oxigênio e óxido nítrico inalatório, não foram computadas como EVENTOS. A interpretação dos *eventos pós-operatórios relevantes* correspondeu a um consenso de três observadores: Prof. Antonio Augusto Lopes, e Dra. Ana Maria Thomaz, e um plantonista assistente da equipe de plantão.

5.12. Dados laboratoriais gerais

Foram obtidos dados de exames laboratoriais de rotina no pré-operatório, pós-operatório imediato, primeiro e segundo dias após a cirurgia. Os dados laboratoriais computados foram: hemoglobina, hematócrito, leucócitos totais, neutrófilos, linfócitos e monócitos. Foi calculada a relação neutrófilos/linfócitos. Também foram computados: plaquetas, volume plaquetário médio (VPM), proteína C reativa (PCR), lactato venoso, bicarbonato e saturação venosa de oxigênio.

5.13. Dados laboratoriais específicos

5.13.1. Coleta e processamento de material para a determinação de mediadores inflamatórios do soro

Para a determinação da concentração sérica de mediadores inflamatórios foram coletadas amostras de sangue venoso periférico em quantidade compatível com a faixa etária dos pacientes (máximo de 3ml), em três momentos: antes da cirurgia, quatro e 24 horas após o término da CEC. Os valores controles foram obtidos de amostras de crianças saudáveis, em idade compatível com os pacientes eleitos para o estudo, com termo de consentimento livre e esclarecido assinado pelo responsável legal. As amostras foram coletadas em tubo sem adição de anticoagulante. O soro foi, então, separado mediante centrifugação a 3000 rpm, por 20 minutos. Alíquotas de soro foram preparadas e estocadas a -80°C até seu uso.

Para a detecção de proteínas séricas (mediadores inflamatórios) foi utilizado “kit” comercial na forma de painel “*Proteome Profiler – Human Cytokine Array*”, R&D Systems (Mineapolis, MN, USA). Todas as amostras foram processadas em duplicatas. São passíveis de análise através do *kit*, 36 mediadores inflamatórios, conforme indicado no quadro abaixo (Tabela 1). A detecção foi feita por ensaio imunoenzimático, após a imobilização das proteínas em membranas de nitrocelulose (“*dot blots*”). Para tanto, foi utilizado anticorpo biotilado e complexo estreptavidina-peroxidase (Streptavidin – HRP). O sinal foi obtido por quimioluminescência e o resultado expresso em unidades de intensidade de pixels (uip) (Figura 4).

Tabela 1 - Mediadores inflamatórios analisados no estudo.

Painel de Mediadores Inflamatórios			
C5A	IL-1 β	IL-13	CXCL11/I-TAC
Ligante CD40	IL-1ra	IL-16	CCL2/MCP-1
G-CSF	IL-2	IL-17	MIF
GM-CSF	IL-4	IL-17E	MIP-1 α /MIP-1 β
CXCL1/GRO α	IL-5	IL-18	CCL5/RANTES
CCL1/I-309	IL-6	IL-21	CXCL12/SDF-1
ICAM-1	IL-8	IL-27	Serpina E1/PAI-1
IFN- γ	IL-10	IL-32 α	TNF- α
IL-1 α	IL-12 p70	CXCL10/IP-10	TREM 1

C5/C5a, complemento; ligante CD40, ligante solúvel CD40; G-CSF, fator estimulante de colônias de granulócitos; GM-CSF, fator estimulante de colônias de granulócitos e macrófagos; CXCL1/GRO α , fator regulador do crescimento da oncogene α ; CCL1/I-309, ligante CCL 1; ICAM-1, molécula de adesão intercelular; IFN- γ , interferon γ ; IL, interleucinas; CXCL10/IP-10, proteína induzida por interferon γ ; CXCL11/I-TAC, proteína quimiotática induzida por interferon; CCL2/MCP1, proteína quimiotática de monócitos; MIF, fator inibidor de migração do macrófago; MIP-1 α /MIP-1 β , proteínas inflamatórias de macrófagos; CCL5/RANTES, "*regulated on activation, normal T cell and secreted*"; CXCL12/SDF-1, "*stromal cell-derived factor 1*"; Serpina E1/PAI-1, inibidor 1 do ativador do plasminogênio; TNF- α , fator de necrose tumoral; TREM 1, "*triggering receptor expressed on myeloid cells*".

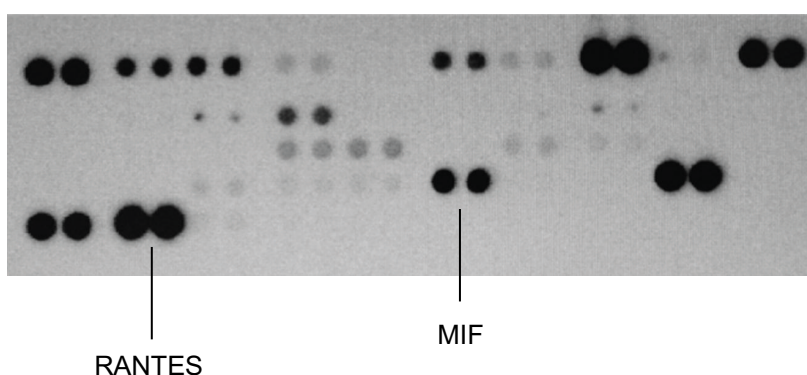


Figura 4 – “Dot blots” representativos do procedimento de detecção e semiquantificação de mediadores inflamatórios séricos.

5.13.2. Coleta e processamento de material para análise de vírus respiratórios

Foi realizada coleta de material aspirado de nasofaringe, na véspera da cirurgia cardíaca, e de material aspirado de traqueia, no momento da intubação traqueal. Dessa forma, foram processadas duas amostras por paciente, na ausência de quaisquer evidências clínicas de estado infeccioso em curso. Os dois materiais foram encaminhados para análise no laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical, com a colaboração da Dra. Clarisse Martins Machado, sendo submetidos às análises como segue:

Processamento por imunofluorescência

Os seguintes agentes foram pesquisados nesta etapa: adenovírus; influenza (A e B); parainfluenza (I, II, III); vírus sincicial respiratório. Foi feito tratamento com mucolítico N-acetil-cisteína, para solubilização da amostra, deixando 15 minutos a 37°. Após centrifugação a 2000 rpm durante 10 minutos, o sobrenadante foi desprezado e preparada uma suspensão de células em PBS de forma a obter uma grande concentração de células. A seguir, foi adicionado 20 µl de suspensão de células em cada círculo da lâmina, que foi seca em temperatura ambiente, fixada com acetona e novamente seca a temperatura ambiente. A revelação foi feita em seguida, adicionando 25µl de anticorpos DFA *Respiratory virus screening & ID kit*, incubando durante 15 minutos a 37°C. Após lavagem e secagem, a lâmina foi montada com glicerina e lamínula para a leitura em microscópio de imunofluorescência.

Processamento por PCR

Após preparo da amostra para a imunofluorescência, uma alíquota da secreção respiratória foi congelada a -80°C para posterior processamento por RT-PCR (*Real Time Protein Chain Reaction*). Foi utilizado Kit Multiplex para detecção de 19 patógenos

respiratórios (XGen, Biometrix Diagnóstica, PR, Brasil). Os patógenos incluídos neste ensaio são: Influenza A sazonal, Influenza A H1N1 pandêmico, influenza B, vírus sincicial respiratório (VSR) A e B, Parainfluenza 1, 2, 3 e 4, Metapneumovirus humano A e B, Rinovírus, Enterovirus, Parechovirus, Adenovírus, Bocavirus, Coronavírus NL63, 229E, OC43, e KU1, e *Mycoplasma pneumoniae*.

A extração de ácidos nucleicos foi feita no equipamento *EasyMag* (BioMerieux, França) de acordo com as instruções do fabricante. Imediatamente após a extração, as amostras foram processadas por RT-PCR, etapa única, em equipamento ABI 7500 (*Applied Biosystems*).

Além do painel citado, na fase do estudo conduzida durante e após a pandemia por corona vírus 19 (COVID-19), todos os pacientes eram submetidos a coleta e análise de matéria de orofaringe para COVID-19. Todos os testes processados por RT-PCR.

5.14. **Avaliação hemodinâmica após a alta hospitalar**

Após a alta hospitalar, os pacientes foram acompanhados por 6 meses, sendo então reavaliada a hemodinâmica pulmonar, de forma não invasiva, por meio de ecocardiografia transtorácica. Para estimar a pressão sistólica arterial pulmonar, um sinal Doppler adequado do jato de regurgitação tricúspide foi necessário. Indivíduos que não apresentavam regurgitação tricúspide significativa não puderam ser avaliados. Todos os fatores e covariáveis registrados no período perioperatório foram testados quanto a um possível papel na previsão da pressão arterial pulmonar pós-hospitalização.

5.15. Obtenção de dados: cuidados para não ocorrência de vieses na obtenção dos resultados

1. Dados hemodinâmicos registrados e computados por enfermeiros sem interferência do pesquisador executante do estudo.
2. Caracterização dos eventos pós-operatórios pelos profissionais: Prof. Antonio Augusto Barbosa Lopes, Dra. Ana Maria Thomaz, e médico plantonista da unidade, sem interferência do pesquisador executante.
3. Caracterização dos genomas virais feita por profissionais do Instituto de Medicina Tropical (IMT-FMUSP), sem contato com a condução dos casos no período pós-operatório.
4. Análise de mediadores inflamatórios realizada pela Dra. Nair Yukie Maeda, sem conhecimento de outros dados clínicos e evolutivos.

5.16. Fluxograma de coleta de dados

A Figura 5 representa as etapas resumidas na coleta de dados.

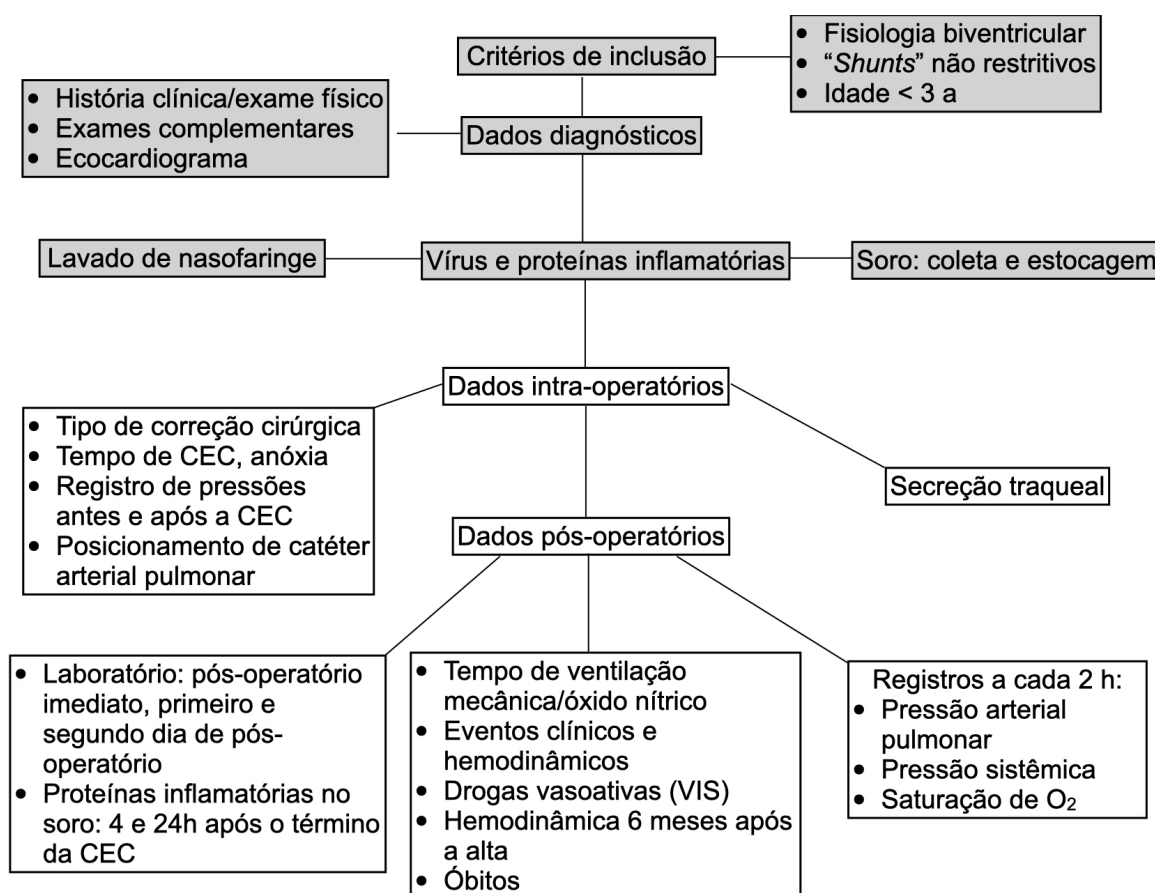


Figura 5 – Resumo dos passos seguidos na coleta das informações.

As caixas na cor cinza representam etapas no período pré-operatório. CEC: circulação extracorpórea. VIS: vasoactive inotropic score.

5.17. Análise estatística

Para finalidade descritiva, os dados numéricos, em geral, são apresentados como mediana e percentis 25 e 75. Situações em que outro tipo de apresentação foi necessária são especificadas. As variáveis categóricas são apresentadas como número de casos, porcentagens e proporções. Ainda com finalidade descritiva, comparações entre grupos foram feitas com uso do teste de Mann-Witney, ou de procedimentos da família Qui-

quadrado para dados categóricos. Dados obtidos no mesmo paciente em momentos diferentes foram analisados com o teste de Friedman ou com o teste de McNemar. Associações entre variáveis foram testadas com a utilização do coeficiente de Spearman (r_s). Para efeito de análise inferencial, foram utilizados dois tipos de ferramentas estatísticas. As análises comparativas entre grupos envolvendo desfechos numéricos foram feitas com o uso de modelo linear geral, após verificação da variável dependente quanto à sua aderência a disposição normal. Sempre que necessário, recorreu-se à transformação da variável de acordo com o procedimento de Box-Cox. As comparações entre grupos levando-se em conta diferentes momentos de observação foram feitas com o uso do modelo linear geral para medidas repetidas, com os mesmos cuidados em relação à verificação de normalidade para variáveis dependentes. Em relação aos desfechos categóricos, a identificação de preditores foi feita com uso de modelos de regressão logística, incluindo análises univariada, bivariada e multivariada. Para este tipo de procedimento todos os dados numéricos foram considerados em quartis, com objetivo de tornar comparáveis as razões de chances entre os possíveis preditores testados. Análises multivariada foram realizadas sempre que apropriado, incluindo todas as variáveis explicativas com valor de $p < 0,10$ na etapa univariada. Modelos de regressão finais foram propostos a partir da utilização do método “*forward LR*” para seleção de preditores. Em todos os testes foi assumido o valor de 0,05 como nível de significância. As análises foram feitas com a utilização do programa IBM-SPSS versão 29, Armonk, NY, USA).

6. Resultados

6. 1. Análise descritiva

6.1.1. Seleção de pacientes, dados demográficos, antropométricos, de história clínica e de avaliação diagnóstica pré-operatória

A seleção dos pacientes foi iniciada em outubro de 2016. A maneira como os pacientes foram selecionados e incluídos no estudo, a partir dos procedimentos cirúrgicos realizados na Instituição no período, está ilustrada na Figura 6. Foram incluídos 60 pacientes com idade entre 3 e 35 meses, mediana de 7 meses, (11–17 meses, percentis 25 e 75). A proporção de gêneros masculino e feminino foi de 22:38. Da amostra total, 39 indivíduos (65%) tinham síndrome de Down, o que se justifica pelo fato de tratar-se de um estudo de coorte em uma instituição terciária de referência no país. Os dados antropométricos, demográficos e de diagnóstico individuais estão dispostos no Anexo C. Os dados amostrais gerais dos 60 pacientes estão dispostos na Tabela 2.

Pacientes com defeitos septais cardíacos congênitos costumam apresentar-se com infecções respiratórias de repetição. Segundo informações obtidas pelos acompanhantes e responsáveis legais, pelo menos 20% dos pacientes apresentavam infecções virais respiratórias antes do encaminhamento ao Instituto do Coração. Vinte e cinco pacientes (42%) apresentaram episódios de bronquiolite e 22 (37%) tiveram pneumonia com necessidade de internação.

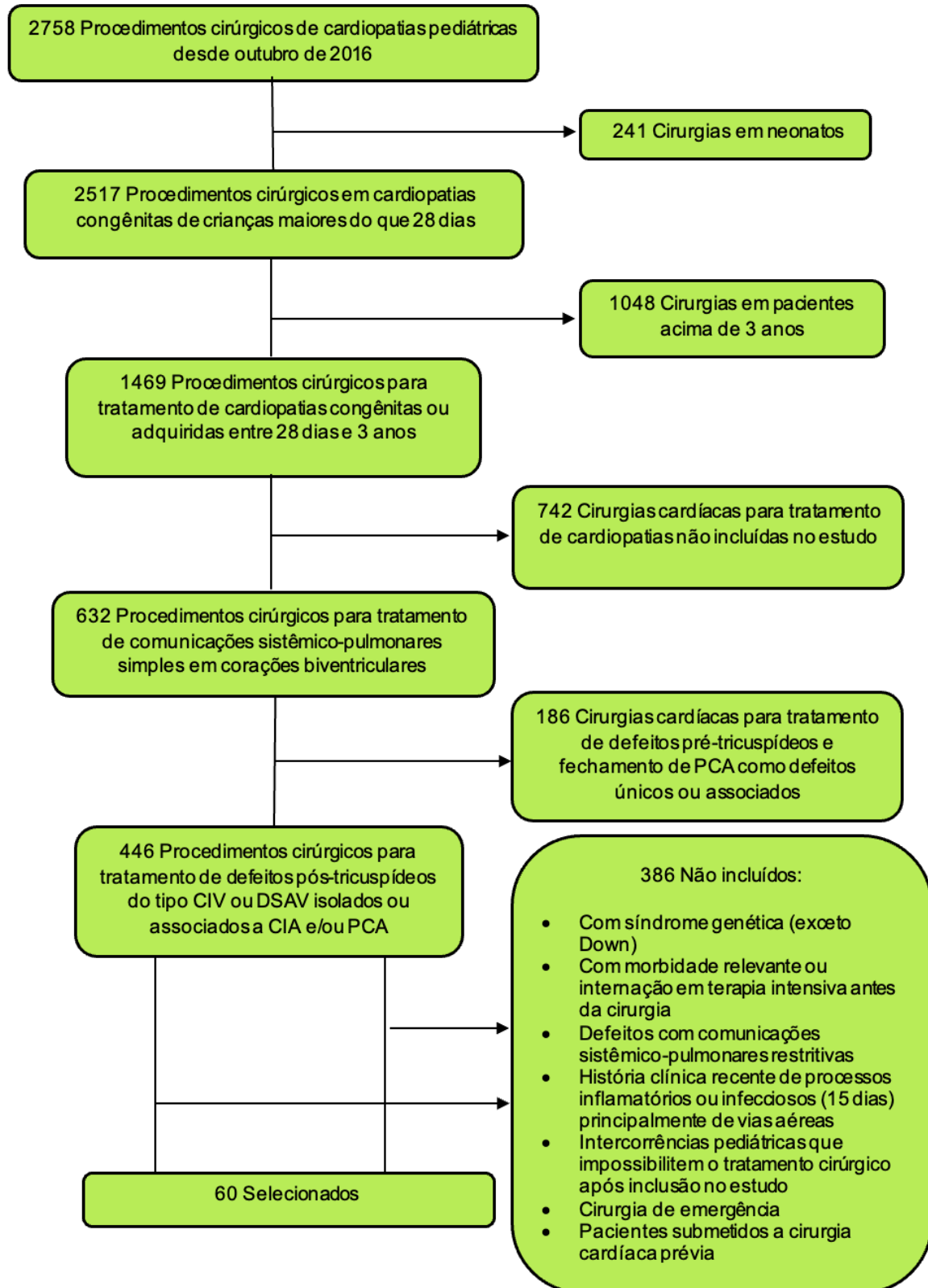


Figura 6 – Etapas de seleção segundo banco de dados do Serviço de Cirurgia de Cardiopatias Congênitas do Instituto do Coração-HCFMUSP. CIA: comunicação interatrial; CIV: comunicação interventricular; DSAV: defeito do septo atrioventricular; PCA: persistência do canal arterial;

Tabela 2 – Dados antropométricos, demográficos e de diagnóstico amostrais em 60 pacientes.

Dados	valor
Idade, meses	7 (11-17)
Gênero, M:F	22:38
Peso, Kg	6,61 (5,68 -7,62)
Estatura, cm	66 (62-73)
S. Down, n (%)	39 (65%)
Diagnóstico	
CIV, n (%)	35 (58%)
DSAV, n (%)	24 (40%)
OUTRA, n (%)	1 (1,7%)
Apresentação clínica*	
Estado hiperdinâmico, congestão pulmonar (sim:não)	54:6
Dados ecocardiográficos	
PSVD, mmHg	75 (65-85)
PAP, mmHg	46 (36-55)
Qp/Qs	2,40 (1,80-3,20)
VTI VP, cm	21,50 (19,78-24,75)
TAPSE, cm	13,00 (10,75-16,00)
SpO ₂ (%)	96 (93-98)
Dados hemodinâmicos intraoperatórios	
Pré-CEC	
Pressão média arterial pulmonar	32 (28-38)
Pressão média arterial sistêmica	46 (27-75)
Razão PAP/PAS	0,78 (0,63-0,88)
Pós-CEC	
Pressão média arterial pulmonar	21 (18-26)
Pressão média arterial sistêmica	52 (48-59)
Razão PAP/PAS	0,40 (0,34-0,47)

Variáveis numéricas expressas em mediana e percentis 25 e 75.

* Refere-se ao estado hiperdinâmico com relação à circulação pulmonar, sendo hiperdinâmico o paciente com sinais de congestão, insuficiência cardíaca, déficit ponderal importante, e não hiperdinâmico a condição que sugere elevação da resistência vascular pulmonar.

CEC: circulação extracorpórea; CIV: comunicação interventricular; DSAV: defeito do septo atrioventricular; PSVD: pressão sistólica do ventrículo direito; PAP: pressão média de artéria pulmonar; Qp/Qs: razão do fluxo pulmonar e fluxo sistêmico; Razão PAP/PAS: razão da pressão média arterial pulmonar e sistêmica; SpO₂: saturação periférica de oxigênio; TAPSE: excursão sistólica do anel tricúspide (medida da função ventricular direita); VTI VP: integral velocidade-tempo do fluxo em veia pulmonar (medida indireta do fluxo pulmonar).

Todos os pacientes foram submetidos à ecocardiografia transtorácica antes da cirurgia. Trinta e cinco pacientes (58%) tinham comunicação interventricular (CIV) ou interarterial (janela aorto-pulmonar) como defeito de comunicação pós-tricuspídeo principal, e 24 (40%) tinham defeito do septo atrioventricular (DSAV). Todos os pacientes diagnosticados com DSAV tinham síndrome de Down. Os pacientes não síndrômicos tinham CIV isolada ou em associações, e um paciente tinha janela aorto-pulmonar. Com relação aos dados hemodinâmicos oferecidos pela ecocardiografia, este grupo se caracterizou por apresentar aumento importante nas pressões pulmonares sistólica e média (Tabela 2). A medida do desvio de fluxo sanguíneo através do defeito anatômico foi expressa pela razão entre o fluxo pulmonar e o sistêmico (Qp/Qs). A mediana do Qp/Qs foi de 2,40, sendo que em um quarto dos pacientes o valor foi inferior a 1,80, sugerindo que, em algum grau, a resistência vascular pulmonar encontrava-se aumentada. Note-se que 25% dos pacientes apresentavam saturação periférica de oxigênio inferior a 93%, o que poderia ser em parte explicado por certo desvio de fluxo sanguíneo da direita para esquerda, corroborando com a suspeição ecocardiográfica de aumento da resistência no território vascular pulmonar. Durante o ato operatório, antes da instalação da CEC, foram realizadas medidas diretas de pressão da arterial pulmonar e sistêmica. Note-se que em 50% dos pacientes a razão entre a pressão média arterial pulmonar e a sistêmica foi superior a 0,40, sendo que em 25% deles a razão situava-se acima de 0,88, refletindo alteração hemodinâmica expressiva. Observação importante foi a relação inversa entre a saturação periférica de oxigênio antes da cirurgia e a pressão arterial pulmonar anterior à circulação extracorpórea especificamente, razão PAS/PAS ($r_s = -0,36$, $p = 0,004$).

Conforme critérios expostos na revisão de literatura ⁽⁴⁾, sete pacientes tiveram indicação para cateterismo cardíaco pré-operatório no sentido de fornecer informações que poderiam auxiliar no encaminhamento ao tratamento cirúrgico. Neste subgrupo, a resistência vascular pulmonar foi de 3,80 (3,00– 4,90) unidades Wood x m² na situação basal, reduzindo para 3,40 (1,50 – 4,30) unidades x m² após a administração de óxido nítrico inalatório, portanto, redução de 10%. Não surpreendeu o valor relativamente baixo de resistência pulmonar na condição basal, face aos critérios do exame, uma vez que o mesmo, na faixa etária pediátrica, é realizado em condições distantes da fisiológica (anestesia geral, ventilação mecânica, bloqueio muscular), o que em geral, elimina o componente reativo da circulação pulmonar. Portanto, todos os sete pacientes, assim como os demais foram direcionados ao tratamento cirúrgico.

6.1.2. Dados intraoperatórios

Todos os 60 pacientes foram indicados para o tratamento corretivo. A cirurgia foi realizada sob hipotermia moderada com mediana de 30,4 (29,4–32,0) °C. Entre os 60 pacientes, 57 receberam concentrado de hemácias para o preenchimento do circuito de CEC, sendo a mediana do volume recebido de 36 (29–48) ml/Kg. A mediana do tempo de CEC, considerando os pacientes com DSAV, foi de 152 (136–166) minutos. Nos demais pacientes com defeitos pós-tricuspidéus foi de 100 (84–121) minutos. Ao final do tempo de CEC, foram submetidos a dez minutos de ultra-filtração e receberam protamina para reversão da anticoagulação, com dose de 12 (11–15) mg/Kg. Em todos os pacientes, foi instalado óxido nítrico inalatório (NO) ao término da CEC. Milrinone e adrenalina foram os principais fármacos usados para suporte circulatório ao final da cirurgia. A critério do cirurgião e das condições de saída de CEC, em algumas situações, foi mantida uma

pequena comunicação interatrial para melhor estabilidade hemodinâmica no período pós-operatório. Todos os pacientes realizaram ecocardiografia transesofágica para checagem da função cardíaca, sendo que dois necessitaram de retorno à CEC para reparo de lesões residuais valvares. Os dados intraoperatórios mais relevantes encontram-se resumidos na Tabela 3.

Foram efetuadas medidas diretas de pressão média arterial pulmonar e pressão média arterial sistêmica, antes e após a CEC. Estes dados encontram-se ilustrados na Figura 7. Como se pode observar, houve redução significativa da pressão da artéria pulmonar e aumento significativo da pressão sistêmica.

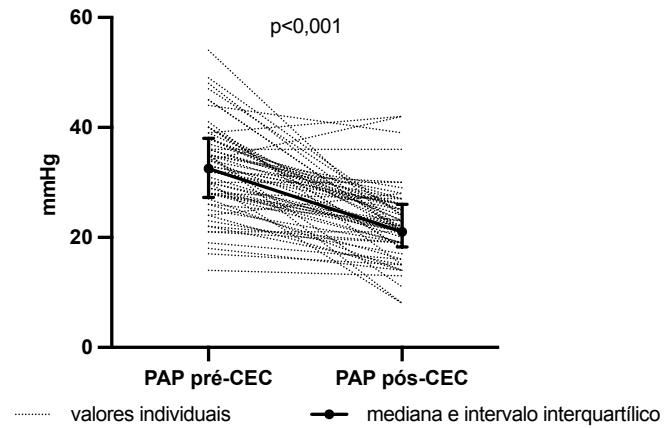
Tabela 3 – Dados intraoperatórios.

Dados intraoperatórios	
Tempo de CEC, min	126 (92-150)
Tempo de anóxia, min	101 (69-122)
Hipotermia, °C	30,4 (29-32)
Ultra-filtração, ml/kg	62 (44-76)
Concentrado de hemácias, ml/kg	36 (30-36)
Pressões Pulmonares	
Pressão média arterial pulmonar pré-CEC, mmHg	32 (27-37)
Pressão média arterial pulmonar pós-CEC, mmHg	21 (19-26)

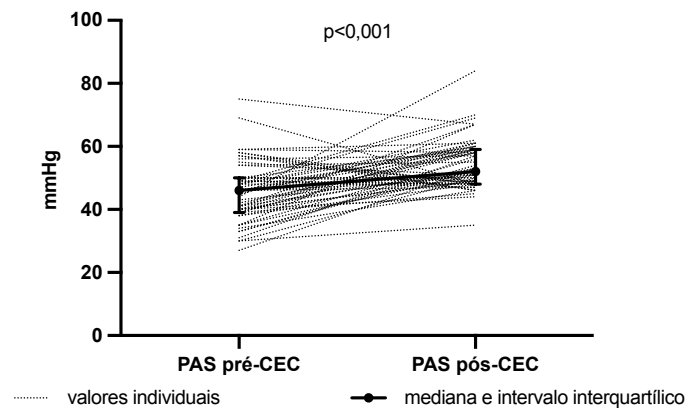
Valores expressos como mediana e percentis 25-75, número de casos e porcentagem.

CEC: circulação extracorpórea; Hipotermia: temperatura mínima alcançada no ato cirúrgico.

PRESSAO MÉDIA ARTERIAL PULMONAR



PRESSAO MÉDIA ARTERIAL SISTÊMICA



RAZÃO PRESSÃO MÉDIA ARTERIAL PULMONAR/SISTÊMICA

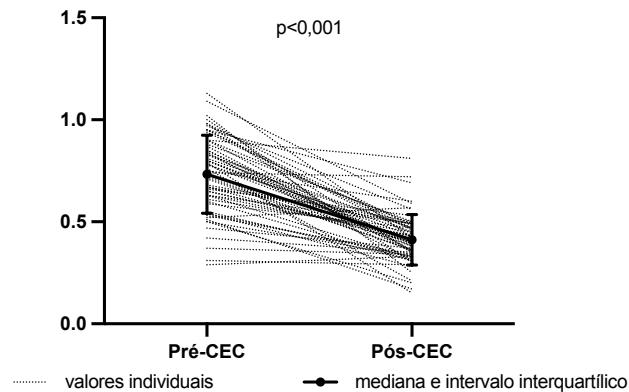


Figura 7 - Pressão média arterial pulmonar e pressão média arterial sistêmica, antes e após a circulação extracorpórea (CEC). Para comparação entre as medidas foi utilizado teste de Wilcoxon.

6.1.3. Dados gerais do período pós-operatório

Os pacientes foram encaminhados para a unidade de terapia intensiva em ventilação mecânica e uso de óxido nítrico inalatório, em dose de 20 ppm. Foram inicialmente mantidos com sedação, e receberam sessões de fisioterapia conforme rotina da unidade de cuidados intensivos. O cateter inserido na artéria pulmonar durante o ato operatório foi mantido por no mínimo dois dias e meio, sendo os valores de pressão computados a cada duas horas. As drogas utilizadas para suporte cardiovascular foram milrinone e adrenalina, eventualmente acrescida a noradrenalina. A dose e a combinação dos fármacos de ação hemodinâmica foram expressas pelo escore de drogas vasoativas, VIS (*vasoactive inotropic score*)^(123,126). Os valores evolutivos de VIS são comentados no item 6.1.4.

O tempo de intubação foi de 7 (6 – 10) dias. Importante notar que 25% dos pacientes permaneceram mais que 10 dias intubados. As causas de ventilação mecânica prolongada, além da hipertensão pulmonar foram: fechamento tardio do tórax, arritmias, estado infeccioso, transtornos respiratórios (infecção pulmonar) e eventos neurológicos como crises convulsivas. O óxido nítrico foi mantido até o final da ventilação mecânica somente quando esta foi estendida em função do distúrbio hemodinâmico pulmonar. Quando a causa da manutenção da ventilação não foi o manejo da hipertensão pulmonar, o óxido nítrico foi suspenso antes da extubação. Eventos de importância clínica e hemodinâmica, conforme definidos anteriormente, ocorreram em 14 pacientes (23%). O tempo em ventilação artificial foi maior em indivíduos que apresentaram eventos clínicos e hemodinâmicos relevantes em relação aos que não apresentaram, respectivamente, 12 (10 – 15) dias e 7 (5 – 8) dias ($p < 0,001$). A mediana do tempo de internação em unidade de cuidados intensivos e intermediários foi 14 (10 – 21) dias e do tempo total de

internação após a cirurgia, 25 (21 – 31) dias. Ressalte-se que 26 pacientes (43%) permaneceram mais de 15 dias em unidade de cuidados intensivos e intermediários, e 43 pacientes (71%) ficaram internados por mais de 20 dias após a cirurgia. Na amostra total ocorreram dois óbitos. Um paciente foi a óbito 10 dias após a cirurgia, e um paciente com 8 dias de pós-operatório. Os óbitos foram relacionados a quadros de hipotensão sistêmica de difícil manejo, e complicações infecciosas com falência de múltiplos órgãos. As Tabelas 4 e 5 ilustram os tempos de permanência para a casuística total e segundo a ocorrência ou não de eventos relevantes no pós-operatório.

Tabela 4 – Tempos registrados para amostra total.

Variável	Tempo em dias
Ventilação mecânica	7 (6-10)
Internação em unidade de tratamento intensivo e cuidados intermediários	14 (10-21)
Internação após a cirurgia	25 (21-31)

Tempos expressos em mediana e percentis 25- 75.

Tabela 5 – Tempos registrados segundo ocorrência de eventos.

Variável	Tempo em dias		p*
	Eventos pós-operatórios presentes	Eventos pós-operatórios ausentes	
Ventilação mecânica	12 (10-15)	7 (5-8)	<0,001
Internação em unidade de tratamento intensivo	23 (13-31)	12 (9-15)	<0,001
Internação após cirurgia	36 (26-52)	22 (18-29)	<0,001

Tempos expressos em mediana e percentis 25- 75.

*Teste de Mann-Whitney.

6.1.4. Dados laboratoriais gerais

Foram coletados dados laboratoriais de todos os pacientes em quatro momentos: antes da cirurgia, na chegada à unidade de cuidados intensivos (aproximadamente 4 horas após o término da CEC), no primeiro e no segundo dia de pós-operatório. A evolução dos dados laboratoriais gerais encontra-se ilustrada na Tabela 6. Em relação aos dados hematológicos, foi observada elevação na contagem dos neutrófilos, diminuição dos linfócitos, e aumento da relação neutrófilos/linfócitos. Foi notado ainda, aumento significativo na contagem de monócitos e redução acentuada no número de plaquetas circulantes. A proteína C reativa começou a elevar-se a partir do primeiro dia de pós-operatório. Evolutivamente, observou-se aumento do nível sérico do bicarbonato e diminuição do lactato. Note-se, além da diminuição expressiva no número de plaquetas, aumento também significativo do seu volume, sugerindo desaparecimento e reposição acelerados destes elementos na circulação (*turnover*).

Tabela 6 – Dados laboratoriais evolutivos.

	Pré-operatório	Pós-operatório imediato	1º dia de pós-operatório	2º dia de pós-operatório	p*
Hb, g/dL	12,10 (11,40-13,10) ^a	13,10 (11,30-13,90) ^b	10,80 (9,70-11,90) ^c	10,30 (9,10-11,30) ^c	<0,001
Ht, %	36 (34-39) ^a	40 (34-43) ^b	33 (30-36) ^a	31 (28-34) ^c	<0,001
Leucócitos, K/ μ L	10,54 (7,69-12,20) ^a	14,05 (11,17-17,18) ^b	13,90 (11,58-18,32) ^b	14,74 (12,42-18,77) ^b	<0,001
Linfócitos, K/ μ L	4,77 (3,58-7,76) ^a	1,70 (1,02-2,13) ^b	1,72 (1,15-2,17) ^b	2,25 (1,55-2,87) ^b	<0,001
Neutrófilos, K/ μ L	3,17 (2,02-4,80) ^a	10,79 (7,85-13,68) ^b	10,70 (8,08-13,66) ^b	10,96 (8,48-15,05) ^b	<0,001
Razão Neutrófilos/Linfócitos	0,56 (0,37-0,97) ^a	6,64 (3,85-10,35) ^b	6,33 (4,19-9,41) ^b	5,06 (3,38-8,9) ^b	<0,001
Monócitos, K/ μ L	0,67 (0,50-1,05) ^a	1,03 (0,71-1,39) ^b	1,44 (0,79-1,88) ^c	1,14 (0,77-1,64) ^{b,c}	<0,001
Plaquetas, x10 ⁹ /L	328 (264-380) ^a	140 (112-170) ^b	138 (109-163) ^b	135 (109-175) ^b	<0,001
VPM, fL	9,4 (8,7-10,0) ^a	9,20 (8,50-9,80) ^a	9,9 (9,2-10,4) ^b	10,0 (9,5-10,7) ^b	<0,001
PCR, mg/L	1,37 (0,33-2,69) ^a	2,18 (1,25-3,18) ^a	59,56 (9,7-74,88) ^b	112,58 (21,47-156,28) ^b	<0,001
Lactato arterial, mg/dL		19 (15-27) ^a	12 (0-14) ^b	0 (0-12) ^b	<0,001
Bicarbonato, mEq/L		19,40 (18,60-21,40) ^a	22,7 (20,5-24,2) ^{a,b}	25,90 (22,40-27,50) ^b	<0,001
Saturação venosa O ₂ , %		76,60 (69,10-83,60)	75,9 (69,7-83,8)	73,00 (65,60-81,20)	0,2
VIS		14 (9-25) ^a	21 (11-42) ^b	25 (11-44) ^b	<0,001

Os resultados estão expressos como mediana e percentis 25-75.

* Teste de Friedman.

Valores em condições que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes (testes *post hoc* de comparações múltiplas).

PCR: proteína C reativa; VIS: *vasoactive inotropic score*; VPM: volume plaquetário médio

Valores de referência fornecidos pelo Laboratório de Análises Clínicas do Instituto do Coração, Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo: bicarbonato, 20,0 – 24,0 mmoL; lactato, 4,0 – 14,0 mg/L; leucócitos, 6,00 - 15,00 k/ μ L; linfócitos, 1,5 – 7,0 k/ μ L; monócitos, 0 – 0,8 k/ μ L; neutrófilos, 6,00 – 8,00 k/ μ L; plaquetas, 150 – 450 k/ μ L; PCR, <5 mg/L; SvO₂ 60 – 85%; razão neutrófilo/ linfócito, 0,78 – 3,53.

6.1.5. Evolução da pressão média arterial pulmonar, pressão média arterial sistêmica e da saturação periférica de oxigênio no período pós-operatório

A pressão arterial pulmonar e a pressão arterial sistêmica foram monitorizadas continuamente, durante dois dias e meio, sendo registradas medidas de duas em duas horas. A evolução das pressões em 60 horas de pós-operatório, encontra-se demonstrada na Figura 8. Em relação à pressão sistêmica, observou-se tendência ao declínio a partir da quarta medida, fenômeno que pode ter sido associado à instabilidade típica do período inicial de cuidados intensivos, requerendo atenção especial no manejo de drogas e ajuste de volemia, com estabilização após as primeiras 24 horas. Ao contrário da pressão sistêmica, a pressão pulmonar no grupo como um todo manteve-se estável nas primeiras horas, seguida de elevação após 24 horas. Este é o período no qual os pacientes experimentam estado de superficialização da sedação. Esta observação é coincidente com uma tendência para a diminuição da saturação periférica de oxigênio.

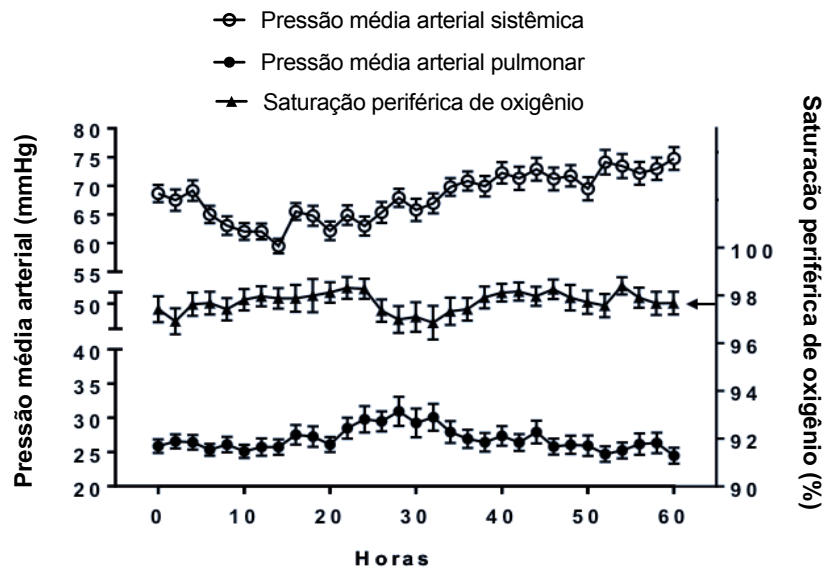


Figura 8 – Evolução da pressão média arterial pulmonar e sistêmica, e da saturação periférica de oxigênio nas primeiras 60 horas de tratamento intensivo pós-operatório, para toda a coorte (60 indivíduos). Os valores foram computados em intervalos de duas horas sendo os resultados apresentados como média e erro padrão.

6.2. Análise inferencial

6.2.1. Detecção de material genético de vírus

Material coletado de nasofaringe

Entre os 60 pacientes, 58 tiveram, material suficiente de nasofaringe para análise. Das 58 amostras processadas, 37 (64%) tiveram resultado positivo para material genético dos vírus pesquisados. Importante notar que 20 pacientes tiveram resultado positivo para apenas um vírus, e 17 para de mais de um. Destes, 10 tiveram dois vírus, 5 tiveram três, um paciente teve quatro e um paciente teve material genético de cinco vírus respiratórios detectado. Um paciente apresentou resultado de imunofluorescência positivo para Adenovírus. O material genético de vírus encontrado com maior frequência na nasofaringe foi o de Rinovírus. A Figura 9

mostra a porcentagem de pacientes em que cada um dos tipos virais esteve presente em nasofaringe.

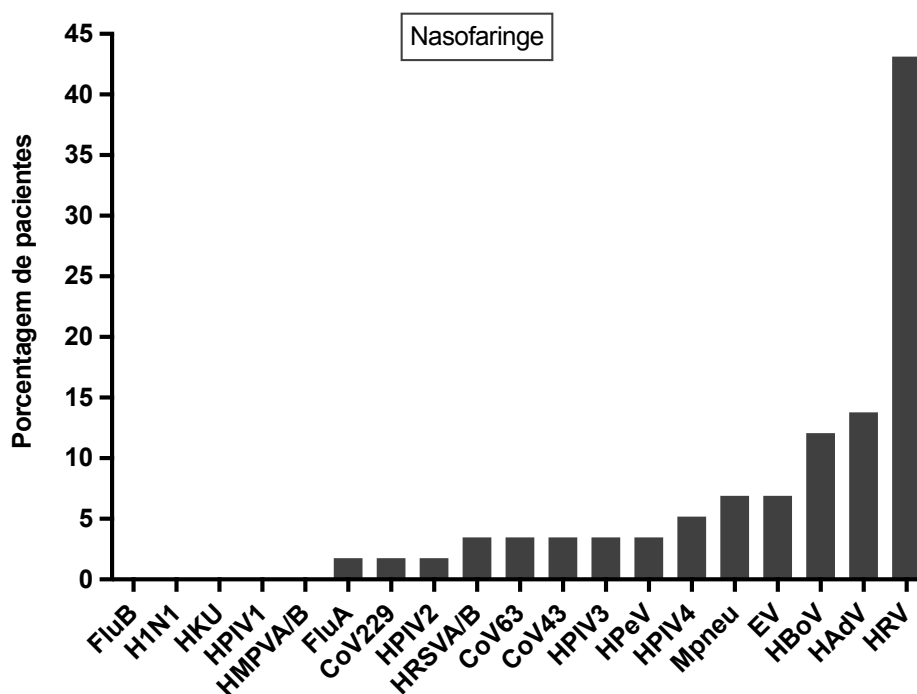


Figura 9 – Distribuição dos vírus detectados em material aspirado de nasofaringe. As barras indicam a porcentagem de pacientes em que cada um dos tipos virais esteve presente.

FluA: Influenza A; FluB: Influenza B; H1N1: Influenza A-sw1 H1N1; Cor63: Coronavírus NL63; Cor:229: Coronavírus 229E; Cor43: Coronavírus OC43; HKU: Coronavírus HKU1; HPIV 1, 2, 3, 4: Parainfluenza 1, 2, 3, 4; HMPVA/B: Metapneumovírus humano A/B; EV: Enterovírus; RV: Rinovírus; HRSVA/B: Vírus sincicial respiratório A/B; HPeV: Parecovírus; HAdV: adenovírus; HAbV: Bocavírus; Mpneu: *Mycoplasma pneumoniae*.

Material coletado de traqueia

Dos 60 pacientes avaliados, 55 tinham material coletado de traqueia suficiente para análise. Em 55 amostras processadas, 21 (38%) tiveram resultado positivo para material genético dos vírus pesquisados. Destes, 14 tiveram apenas um vírus detectado, cinco tiveram dois, e dois tiveram material genético de três vírus detectados. O vírus mais encontrado foi o Rinovírus (20% de todos os pacientes avaliados). Apenas um paciente apresentou imunofluorescência positiva para o vírus Parainfluenza 3. A Figura

10 representa a percentagem de pacientes em que cada um dos tipos virais esteve presente em secreção aspirada da traqueia.

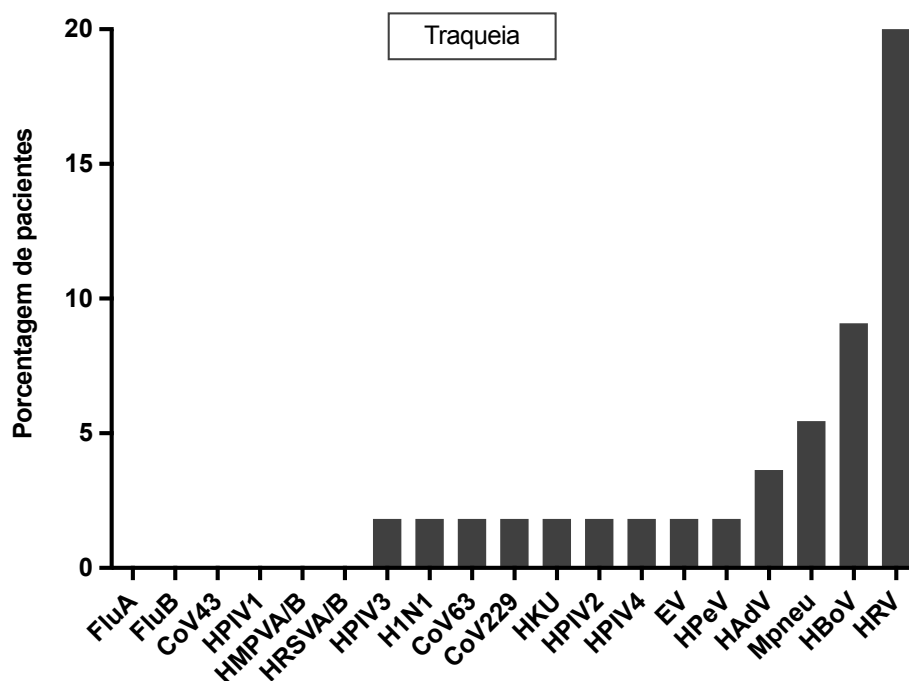


Figura 10 – Distribuição dos vírus detectados em material aspirado de traqueia. As barras indicam a percentagem de pacientes em que cada um dos tipos virais esteve presente.

FluA: Influenza A; FluB: Influenza B; H1N1: Influenza A-sw1 H1N1; CoV63: Coronavírus NL63; CoV229: Coronavírus 229E; CoV43: Coronavírus OC43; HKU: Coronavírus HKU1; HPIV 1, 2, 3, 4: Parainfluenza 1, 2, 3, 4; HMPVA/B: Metapneumovírus humano A/B; EV: Enterovírus; RV: Rinovírus; HRSVA/B: Vírus sincicial respiratório A/B; HPeV: Parecovírus; HAdV: adenovírus; HAbV: Bocavírus; Mpneu: *Mycoplasma pneumoniae*.

Análise comparativa: material genético encontrado em nasofaringe versus traqueia

Com base na detecção de vírus respiratórios em amostras de nasofaringe e de traqueia, procurou-se verificar a existência ou não de concordância entre os resultados. A Tabela 7 mostra que apesar da alta percentagem de concordância com relação aos resultados positivos, a mesma foi bem menos expressiva para os diagnósticos negativos. Entretanto, a análise de risco de positividade em traqueia com base na positividade em nasofaringe mostrou razão de chances igual a 6,38 (I.C. de 95% 1,57 – 25,83), $p = 0,010$.

Tabela 7 – Análise comparativa da positividade para material genético de vírus respiratórios em amostras de nasofaringe e de traqueia.

		Pesquisa em Nasofaringe		
		Positiva	Negativa	
Pesquisa em traqueia	Positiva	17 (85%)	16 (47%)	33
	Negativa	3 (15%)	18 (53%)	21
	Total	20	34	54

Estão expressos todos os casos com amostras suficientes para análise em ambos os territórios. Os dados são apresentados em número de casos e porcentagens (colunas) tendo sido analisados com uso do teste de McNemar ($p=0,004$).

Análise durante a pandemia por COVID-19

A partir da pandemia por coronavírus 19 (COVID-19), 10 pacientes entraram no estudo. Nesta fase todos os pacientes foram submetidos a coleta e análise de material de nasofaringe para COVID-19 (processamento por RT-PCR), sendo que o teste negativo foi condição obrigatória para liberação cirúrgica. Em relação aos testes feitos em material aspirado de traqueia, 9 tinham quantidade suficiente para análise. Um deles teve o teste específico para SARS-CoV-2 com resultado positivo. Este paciente também testou positivo para o vírus da Parainfluenza humana 3, Bocavírus humano e *Mycoplasma pneumoniae*.

6.2.2. Análise do desfecho primário: vírus respiratórios e curvas pressóricas no período pós-operatório

Esta análise se deu em duas etapas. Na primeira etapa, procurou-se estudar as curvas de pressão arterial pulmonar e sistêmica, nas primeiras 12 horas do período pós-operatório, comparativamente entre os portadores e não portadores de material genético de vírus em nasofaringe e traqueia. Cabe lembrar que nesse período de avaliação, os

pacientes permaneciam sob efeito de sedação, ventilação mecânica e uso de oxido nítrico inalatório. Na segunda etapa, utilizando-se a variável PAP/PAS_{POI} como resposta, procurou-se identificar possíveis preditores pré-operatórios e intraoperatórios do comportamento hipertensivo da circulação pulmonar. A análise comparativa das curvas de pressão média arterial pulmonar (PAP), pressão média arterial sistêmica (PAS), da razão PAP/PAS e da saturação periférica de oxigênio (SpO₂) encontram-se ilustradas nas Figuras 11 e 12.

Foram efetuados cálculos estatísticos e construídos gráficos comparando-se os grupos com e sem material genético viral. Tendo como ponto de partida os resultados obtidos com a análise do material coletado de nasofaringe, não foram observadas diferenças significantes no comportamento da PAP ($p=0,092$) e PAS ($p=0,256$). O mesmo ocorreu quando analisada a evolução da variável PAP/PAS ($p=0,343$) e da saturação periférica de oxigênio ($p=0,487$). A Figura 11 mostra as curvas de evolução nas primeiras 12 horas, em pacientes com e sem material genético de vírus respiratórios em nasofaringe.

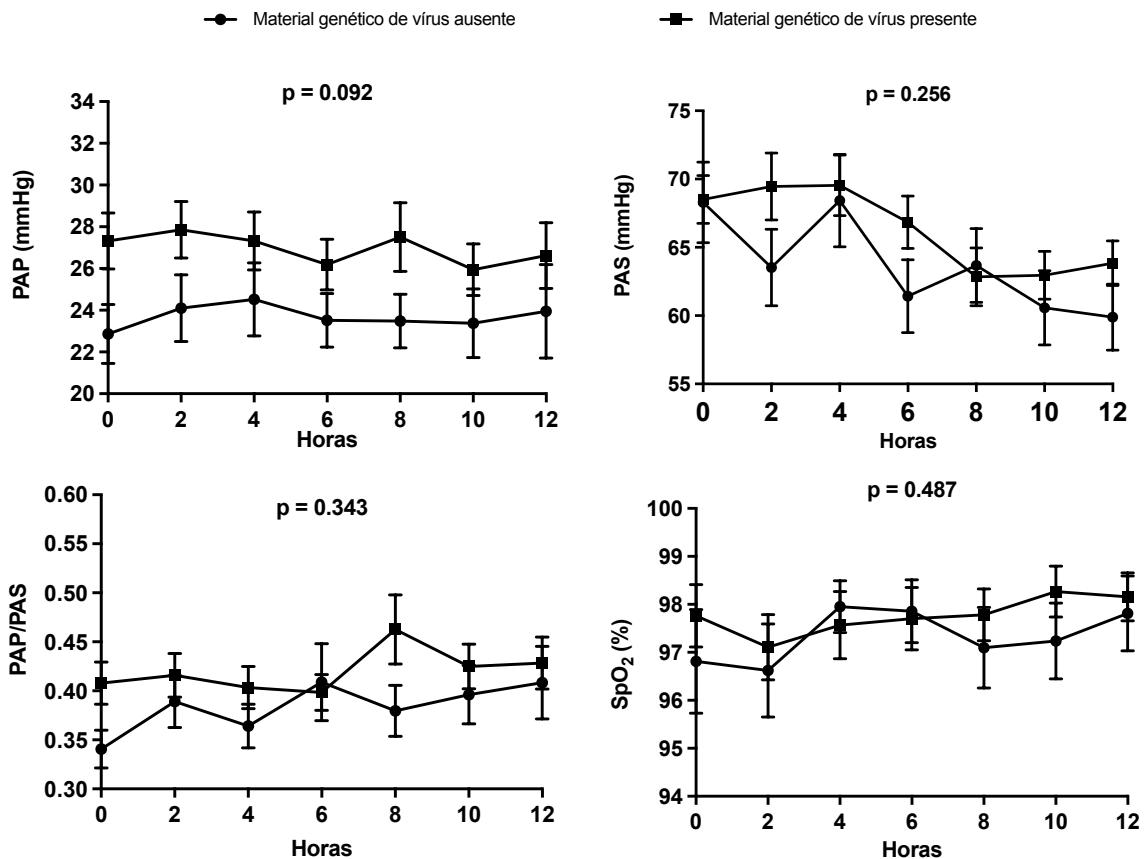


Figura 11 – Comportamento da pressão média arterial pulmonar (PAP), pressão média arterial sistêmica (PAS), da razão PAP/PAS e da saturação periférica de oxigênio (SpO₂), nas primeiras 12 horas do período pré-operatório, analisado comparativamente em pacientes portadores e não portadores de material genético de vírus respiratórios em amostras de nasofaringe.

Os dados foram analisados com o uso do modelo linear geral para medidas repetidas, após transformação Box-Cox das variáveis dependentes, e encontram-se expressos como média e erro padrão. PAP e PAS: pressão arterial pulmonar e pressão arterial sistêmica média, respectivamente; PAP/PAS: relação pressão arterial pulmonar/sistêmica; SpO₂: saturação periférica de oxigênio.

Quando analisados os dados de pacientes segundo a presença ou ausência de material genético de vírus respiratórios na traqueia, observou-se que o grupo com genomas virais presentes apresentou valores superiores de PAP em relação ao grupo sem material genético viral (p=0,011). Já o comportamento da PAS foi semelhante nos dois grupos (p=0,233). Quando analisada a razão PAP/PAS, nota-se que houve diferença significativa, sendo que os pacientes com presença de material genético de vírus respiratórios tiveram valores superiores (p=0,006). As curvas de saturação periférica de

oxigênio não foram diferentes entre os grupos ($p=0,078$), havendo tendência a menores valores no grupo com genomas virais presentes. A Figura 12 mostra as curvas de evolução nas primeiras 12 horas, em pacientes com e sem material genético de vírus analisado em amostras da traqueia.

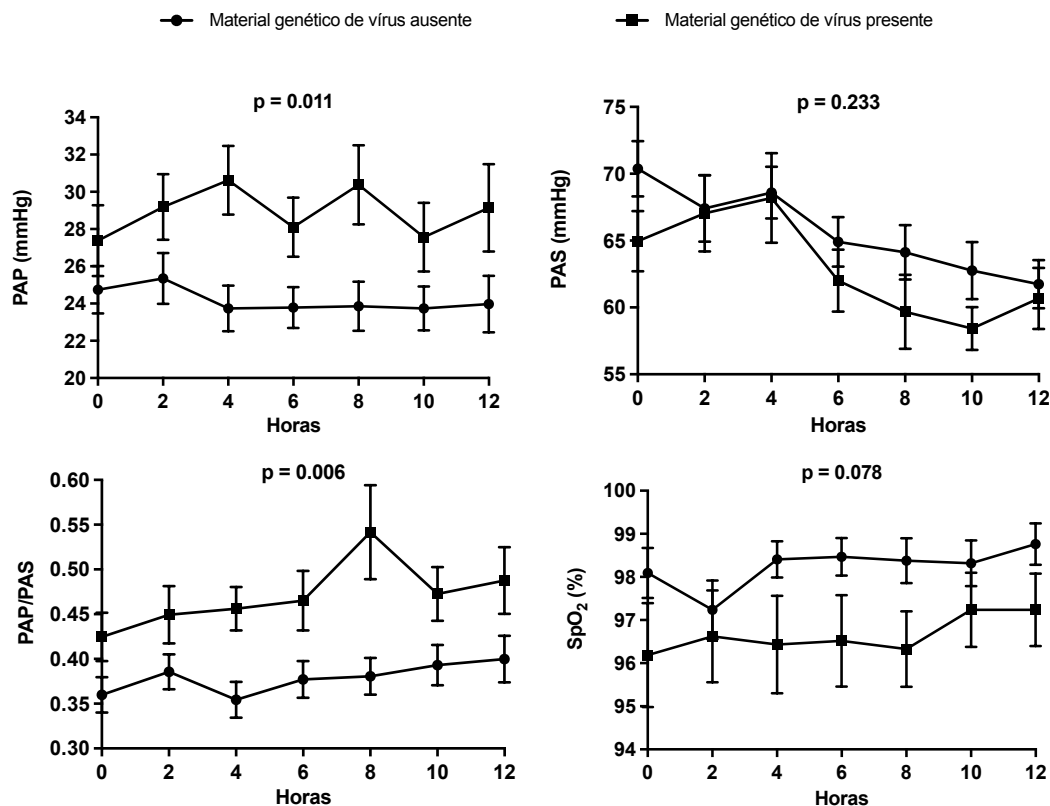


Figura 12 – Comportamento da pressão média arterial pulmonar (PAP), pressão média arterial sistêmica (PAS), da razão PAP/PAS e da saturação periférica de oxigênio (SpO_2), nas primeiras 12 horas do período pré-operatório, analisado comparativamente em pacientes portadores e não portadores de material genético de vírus respiratórios, em amostras de traqueia.

Os dados foram analisados com o uso do modelo linear geral para medidas repetidas, após transformação Box Cox das variáveis dependentes, e encontram-se expressos como média e erro padrão. PAP e PAS: pressão arterial pulmonar e pressão arterial sistêmica média, respectivamente; PAP/PAS: relação pressão arterial pulmonar/sistêmica; SpO_2 : saturação periférica de oxigênio.

6.2.3. Dados pré e intraoperatórios comparativos entre grupos caracterizados pela presença ou ausência de material genético de vírus respiratórios em traqueia

Tendo em vista a diferença significativa no comportamento hemodinâmico pulmonar entre portadores e não portadores de material genético de vírus respiratórios em traqueia, a tarefa seguinte foi verificar até que ponto tais grupos eram homogêneos em relação às observações pré e intraoperatórias. Os resultados ilustrados na Tabela 8 indicam que os grupos eram homogêneos com relação a todos os dados de diagnóstico clínico e achados intraoperatórios anteriores à correção das anomalias. Diferenças começam a ser observadas logo após a eliminação dos *shunts* cardíacos, situação em que a circulação pulmonar pode ser examinada sem a influência do aumento do fluxo sanguíneo promovido pela comunicação com a circulação sistêmica. Como ilustrado na Tabela 8, imediatamente após a CEC, a razão PAP/PAS apresentou-se em nível mais elevado nos pacientes portadores de material genético viral em traqueia ($p=0,035$).

Tabela 8 – Dados comparativos pré e intraoperatórios entre portadores e não portadores de material genético de vírus, em material aspirado de traqueia.

	Material genético de vírus presente (n=21)	Material genético de vírus ausente (n=34)	p
Dados antropométricos e demográficos			
Idade, meses	11 (8-15)	10 (7-17)	0,621*
Gênero, M:F	7:14	14:20	0,767†
Peso, kg	6,4 (6,0-7,5)	6,6 (5,4-8,1)	0,993*
Estatuta, cm	66,0 (62,0-70,5)	65,0 (61,8-72,5)	0,835*
Down, %	10 (47)	26 (76)	0,058†
Diagnóstico principal			
CIV, n (%)	14 (66,6)	19 (52,9)	0,610†
DSAV, n (%)	7 (33,3)	15 (44,1)	
Variáveis ecocardiográficas			
PSVD, mmHg	75 (63-85)	76 (69-86)	0,434*
PMAP, mmHg	47 (40-56)	44 (32-55)	0,478*
Qp/Qs	2,20 (1,55-2,90)	2,25 (1,70-3,05)	0,597*
VTIVP §, cm	21,3 (19,7-25,0)	21,3 (18,8-25,3)	0,815*
TAPSE ^a	13 (12-16)	15 (13-17)	0,155*
SpO ₂ , %	96 (92-98)	96 (93-98)	0,875*
Dados intraoperatórios			
Tempo de CEC, min	125 (95-153)	132 (89-151)	0,986*
Tempo de anóxia, min	101 (65-125)	107 (69-123)	0,890*
Pressões antes da CEC			
PAP, mmHg	37 (30-40)	32 (28-36)	0,070*
PAS, mmHg	46 (40-48)	44 (38-50)	0,835*
PAP/PAS	0,83 (0,68-0,94)	0,79 (0,62-0,86)	0,212*
Pressões após a CEC			
PAP, mmHg	24 (20-26)	21 (17-26)	0,186*
PAS, mmHg	52 (48-60)	53 (48-59)	0,466*
PAP/PAS	0,46 (0,38-0,55)	0,38 (0,32-0,46)	0,035*

Valores correspondentes às variáveis numéricas estão expressos em mediana e percentis 25-75.

* Teste Chi quadrado.

† Teste de Mann-Whitney.

§ VTIVP: valores <20, em pacientes pediátricos com shunts cardíacos não restritivos, são geralmente associados a resistência vascular pulmonar elevada (127,128)

^a TAPSE: valores normais aumentam com a idade. Valores normais: um ano de idade $\geq 15,5$; dois anos de idade $\geq 16,5$ (129)

CEC: circulação extracorpórea; PMAP: pressão média de artéria pulmonar medida pelo ecocardiograma, PSVD: pressão sistólica de ventrículo direito medida pelo ecocardiograma; PAP: pressão média arterial pulmonar; PAS: pressão média arterial sistêmica; TAPSE: excursão sistólica do anel tricúspide (medida da função ventricular direita); VTIVP: Integral velocidade-tempo do fluxo sanguíneo da veia pulmonar.

6.2.4. Desfecho relacionado ao objetivo primário: o comportamento da variável PAP/PAS_{POI}

O desfecho primário também foi analisado observando-se o comportamento da razão pressão média arterial pulmonar/pressão média arterial sistêmica (variável PAP/PAS_{POI}, conforme definido, um único valor médio para cada paciente), nas primeiras seis horas do curso pós-operatório, momento em que os pacientes ainda se encontravam sob efeito de sedação profunda e ventilação mecânica, relativamente distantes das oscilações volêmicas decorrentes da CEC. Em estudos anteriores, em nosso grupo (112,130), esta variável, atrelando a pressão pulmonar à sistêmica após a eliminação do *shunt* cardíaco, revelou-se como um robusto preditor dos acontecimentos pós-operatórios no hospital e após a alta. Na casuística como um todo, este parâmetro variou entre 0,19 e 0,74, com mediana de 0,37 (0,32-0,46). A análise comparativa entre portadores e não portadores de material genético viral em aspirado traqueal mostrou nível significativamente superior da variável PAP/PAS_{POI} nos primeiros relativamente aos demais, com valores de 0,44 (0,36–0,50) e 0,34 (0,30–0,45) respectivamente ($p=0,008$, modelo linear geral).

6.2.4.1. Fatores implicados na hemodinâmica pós-operatória inicial

A seguir, procedeu-se à análise de dados pré e intraoperatórios, no sentido de se identificar preditores do comportamento hipertensivo da circulação pulmonar em relação à sistêmica, além da presença de genomas virais em traqueia. Para tanto, a variável resposta PAP/PAS_{POI} foi considerada em forma categórica. Estudos anteriores do nosso grupo indicaram 0,40 como valor de corte mais apropriado. A análise univariada para possíveis preditores de níveis pós-operatórios de PAP/PAS_{POI} superiores a 0,40

encontra-se disposta na Tabela 9. Os dados indicaram oito fatores como potenciais preditores (valores de $p < 0,10$). Entretanto, apenas a saturação periférica de oxigênio pré-operatória, identificada como fator de proteção (razão de chances 0,40 para quartis, I.C. 95% 0,23 – 0,72, $p=0,002$) e a presença de genomas virais em traqueia, identificada como fator de risco (razão de chances 4,42, I.C. 95% 1,17 – 16,78, $p=0,029$), tiveram papel significativo no modelo final multivariado (Tabela 10). A inclusão da saturação de oxigênio no modelo estatístico ocasionou aumento de 30% na razão de chances correspondente aos vírus, funcionando como “*enhancer*” na predição. O impacto da saturação periférica de oxigênio basal e da presença/ausência de genomas virais em traqueia sobre a probabilidade de ocorrência de $PAP/PAS_{POI} > 0,40$ no pós-operatório imediato está ilustrado na Figura 13.

Tabela 9 – Variáveis com potencial impacto na hemodinâmica do período pós-operatório inicial: análise univariada.

Variável	Coeficiente	Razão de chances	I.C. de 95%		p
			Limite inferior	Limite superior	
Idade	0,244	1,28	0,81	2,02	0,296
Gênero	-0,454	0,64	0,22	1,86	0,408
Peso	-0,024	0,98	0,62	1,54	0,920
Estatura	0,159	1,17	0,75	1,85	0,491
Síndrome de Down	0,968	2,63	0,85	8,20	0,095
Tipo de cardiopatia DSAV versus CIV	1,330	3,79	1,28	11,25	0,017
SpO ₂	-0,701	0,50	0,30	0,81	0,005
Qp/Qs	-0,112	0,89	0,56	1,42	0,637
VTI VP	0,355	1,43	0,90	2,27	0,135
TAPSE	-0,454	0,64	0,39	1,05	0,076
Tempo de CEC	0,931	2,54	1,45	4,44	0,001
PAP antes da CEC	0,504	1,66	1,01	2,73	0,048
PAP/PAS antes da CEC	0,498	1,65	1,01	2,69	0,047
Presença de material genético de vírus respiratórios em traqueia	1,223	3,40	1,09	10,59	0,035

Os resultados foram obtidos usando análise de regressão logística.

A razão de chances corresponde à observação de valores superiores a 0,40 para a variável PAP/PAS_{POI} (hemodinâmica do período pos-operatório inicial conforme definido anteriormente). Todas as variáveis numéricas foram analisadas como quartis.

CEC: circulação extracorpórea; CIV: comunicação inter-ventricular; DSAV: defeito do septo atrio-ventricular; PAP: pressão média arterial pulmonar; PAS: pressão média arterial sistêmica; Qp/Qs: razão fluxo pulmonar/fluxo sistêmico; SpO₂: saturação periférica de oxigênio; TAPSE: excursão sistólica do anel tricúspide (medida da função ventricular direita); VTI VP: integral velocidade-tempo do fluxo em veia pulmonar (medida indireta do fluxo pulmonar).

Tabela 10 – Variáveis com potencial impacto na hemodinâmica do período pós-operatório inicial: análise multivariada.

Variável	Coeficiente	Razão de chances	I.C. de 95%		p
			Limite inferior	Limite superior	
SpO ₂ †	-0,909	0,40	0,23	0,72	0,002
Presença de material genético de vírus respiratórios em traqueia†	1,487	4,42	1,17	16,78	0,029

Somente foram testadas variáveis com valor de p < 0,10 na análise univariada. O procedimento Forward LR foi utilizado para inclusão e exclusão de variáveis.

A razão de chances corresponde à observação de valores superiores a 0,40 para a variável PAP/PAS_{POI}.

† Variável testada em quartis.

SpO₂: saturação periférica de oxigênio basal.

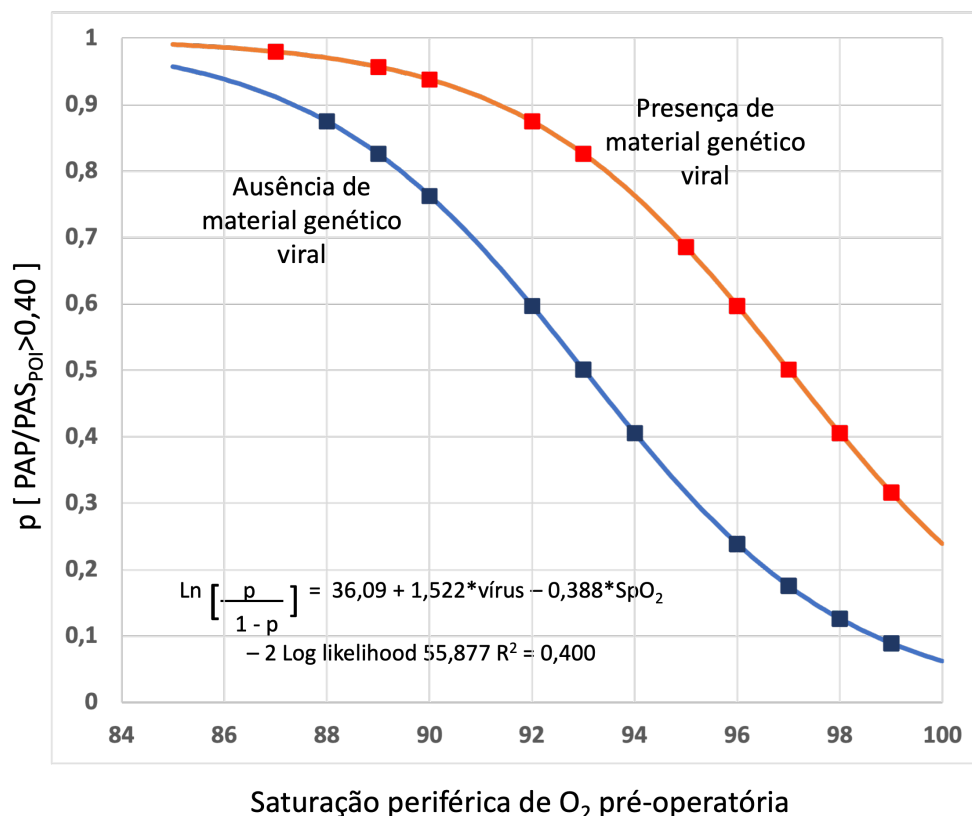


Figura 13 – Efeito da saturação periférica de oxigênio pré-operatória e da presença/ausência de material genético de vírus respiratórios em traqueia, sobre a hemodinâmica pulmonar e sistêmica no início do período pós-operatório.

Os dados correspondem a ajustamento de modelo de regressão logística (análise final multivariada). Encontra-se expressa a probabilidade p de ocorrência de valores superiores a 0,40 para variável desfecho PAP/PAS_{POI} (razão pressão média arterial pulmonar/pressão média arterial sistêmica, um valor para cada paciente conforme definido). Tanto o fator (presença de genoma viral) como a covariável (saturação de oxigênio) mostraram significância estatística no modelo.

Sendo o Rinovírus o agente mais frequentemente encontrado na amostra, o desfecho PAP/PAS_{POI} foi analisado especificamente para este tipo viral. Observou-se, como demonstrado na Figura 14, que a presença de Rinovírus por si só respondeu pelo comportamento hipertensivo da pressão arterial pulmonar em relação à sistêmica.

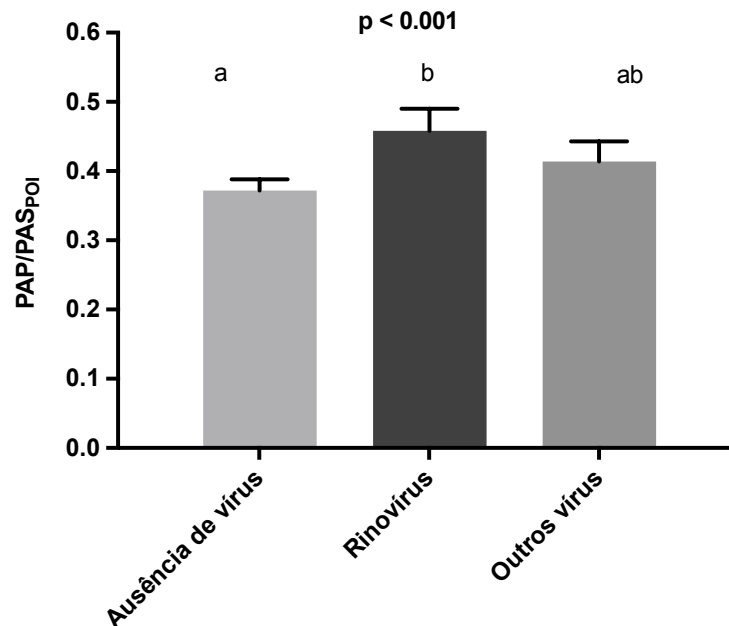


Figura 14 – Associação entre a presença de Rinovírus em material aspirado de traqueia e comportamento hemodinâmico da pressão arterial pulmonar no pós-operatório inicial, caracterizado pela variável PAP/PAS_{POI} conforme definido.

Os dados foram analisados utilizando o modelo linear geral após transformação Box-Cox da variável dependente. Os resultados são apresentados como médias e erro padrão. Grupos que não compartilham a mesma letra foram diferentes em comparações múltiplas *post hoc*.

6.2.4.2. O papel da resposta inflamatória sobre a hemodinâmica pós-operatória

Inicialmente, 36 marcadores inflamatórios séricos foram analisados na situação basal, pré-operatória, comparativamente entre pacientes e controles pediátricos. Conforme se observa pelos resultados expostos na Tabela 11, não foram observadas diferenças, à exceção da fração C5/C5a do complemento, cuja concentração se mostrou maior nos pacientes em relação aos controles ($p=0,027$).

Tabela 11 – Mediadores inflamatórios na situação pré-operatória.

Marcador	Nível sérico em pacientes	Nível sérico em controles	p*
C5/C5a, uip	3193 (1199–6766)	1776 (841–3954)	0,027
CD40L, uip	6148 (3130–10,662)	5041 (2811–9095)	0,366
G-CSF, uip	448 (265–814)	346 (203–629)	0,122
GM-CSF, uip	327 (161–440)	240 (136–338)	0,179
GRO α , uip	1947 (1319–3250)	1927 (1384 – 3469)	1,000
I-309, uip	505 (254–1158)	579 (290–758)	0,589
ICAM-1, uip	41303 (31.628–52.121)	41740 (34280–48948)	0,983
IFN- γ , uip	294 (180–407)	223 (133–375)	0,183
IL-1 α , uip	365 (202–617)	308 (196–562)	0,510
IL-1 β , uip	170 (124–470)	192 (97–384)	0,671
IL-1RA, uip	1626 (730–2450)	1582 (911–2293)	0,994
IL-2, uip	192 (120–490)	230 (106–402)	0,520
IL-4, uip	337 (166–488)	255 (168–370)	0,107
IL-5, uip	126 (79–240)	106 (60–206)	0,586
IL-6, uip	301 (180–621)	405 (17 –868)	0,301
IL-8, uip	267 (148–447)	201 (136–396)	0,516
IL-10, uip	250 (141–391)	242 (139–331)	0,856
IL-12p70, uip	261 (151–421)	230 (117–372)	0,292
IL-13, uip	619 (318–1208)	552 (298–1036)	0,730
IL-16, uip	592 (290–1085)	661 (338–1094)	0,865
IL-17, uip	293 (177–477)	222 (113–383)	0,136
IL-17E, uip	400 (208–639)	314 (189–493)	0,190
IL-27, uip	283 (157–415)	208 (12–377)	0,192
IL-32 α , uip	583 (281–977)	470 (313–934)	0,637
IP-10, uip	787 (425–1375)	646 (260–1091)	0,217
I-TAC, uip	519 (279–913)	443 (263–755)	0,589
MCP-1, uip	439 (232–824)	369 (266–653)	0,647
MIF, uip	5529 (4652–7003)	6359 (5780–6651)	0,104
MIP-1 α/β , uip	524 (269–878)	379 (236–551)	0,078
Serpin E1, uip	44650 (34461–56664)	44616 (38865–49632)	0,891
RANTES, uip	61983 (47488–71255)	55311 (43257–63809)	0,055
SDF-1, uip	4348 (3333–6127)	4095 (3380–5184)	0,418
TNF- α , uip	306 (149–585)	237 (135–440)	0,522
sTREM-1, uip	280 (177–533)	223 (132–480)	0,163
IL-18, uip	1058 (544–1576)	1091 (652–1763)	0,640
IL-21, uip	411 (266–732)	400 (213–612)	0,614

Resultados apresentados como mediana e percentis 25-75.

*Teste de Mann-Witney.

A seguir, foi estudado o comportamento dos mediadores inflamatórios em resposta à circulação extracorpórea, comparativamente a níveis basais. Como se observa na Tabela 12, as determinações efetuadas quatro horas e 24 horas após o término da circulação extracorpórea mostraram modificações em relação a vários marcadores. Alguns deles tiveram níveis mais altos no pós-operatório inicial, com declínio posterior, como, por exemplo, as citocinas inflamatórias IL-6 ($p < 0,001$) e IL-8 ($p < 0,001$), e a citocina anti-inflamatória IL-1RA ($p < 0,001$). O mesmo foi observado em relação às quimiocinas IP-10 ($p < 0,001$), MCP-1 ($p < 0,001$), e MIF ($p < 0,001$). Por outro lado, houve diminuição significativa nos níveis circulantes de alguns marcadores como, por exemplo, a fração C5/C5a do complemento ($p = 0,021$), e as proteínas CD40L ($p < 0,001$) e RANTES ($p = 0,004$). A redução nos níveis séricos de CD40L e RANTES muito provavelmente estiveram relacionadas, respectivamente, à diminuição no número de plaquetas e linfócitos circulantes.

Tabela 12 – Mediadores inflamatórios quatro e 24 horas após a CEC comparativamente aos níveis basais.

Marcador	Antes da cirurgia	4 horas após CEC	24 horas após CEC	p*
C5/C5a, uip	3193 (1199 – 6766)	1795 (1073 – 3577)	2300 (1229 – 5168)	0,150
CD40L, uip	6148 (3129 – 10662) ^a	2474 (1263 – 4974) ^b	3002 (1794 – 4923) ^b	< 0,001
G-CSF, uip	447 (264 – 813) ^a	1222 (684 – 1989) ^b	608 (304 – 1065) ^a	< 0,001
GM-CSF, uip	327 (160 – 439)	278 (171 – 397)	286 (155 – 440)	0,978
GRO α , uip	1946 (1319 – 3249) ^a	1301 (757 – 2134) ^b	1054 (554 – 1655) ^b	< 0,001
I-309, uip	504 (253 – 1157)	623 (300 – 935)	438 (266 – 845)	0,247
ICAM-1, uip	41303 (31628 – 52121)	39366 (28739 – 48650)	38907 (29779 – 46140)	0,206
IFN- γ , uip	293 (180 – 407)	285 (187 – 431)	247 (150 – 393)	0,414
IL-1 α , uip	364 (202 – 616)	366 (227 – 726)	368 (185 – 637)	0,126
IL-1 β , uip	170 (123 – 470)	224 (121 – 435)	230 (102 – 422)	0,607
IL-1RA, uip	1626 (729 – 2450) ^a	15023 (11423 – 20346) ^b	6220 (3688 – 9978) ^c	< 0,001
IL-2, uip	192 (120 – 490)	222 (146 – 378)	197 (109 – 432)	0,620
IL-4, uip	336 (165 – 487)	295 (206 – 460)	255 (142 – 475)	0,336
IL-5, uip	126 (78 – 240)	136 (75 – 214)	115 (68 – 222)	0,290
IL-6, uip	300 (179 – 620) ^a	1197 (562 – 2127) ^b	804 (431 – 1262) ^b	< 0,001
IL-8, uip	266 (148 – 446) ^a	481 (231 – 827) ^b	262 (163 – 492) ^a	< 0,001
IL-10, uip	250 (141 – 390)	283 (204 – 460)	258 (156 – 418)	0,247
IL-12p70, uip	261 (151 – 420)	239 (131 – 412)	246 (136,5 – 414)	0,689
IL-13, uip	619 (317 – 1208)	671 (355 – 1157)	599 (327 – 1136)	0,556
IL-16, uip	591 (290 – 1085) ^a	1858 (1170 – 2840) ^b	955 (535 – 1606) ^c	< 0,001
IL-17, uip	293 (176 – 476)	273 (175 – 521)	279 (185 – 448)	0,695
IL-17E, uip	399 (207 – 638)	349 (239 – 602)	397 (211 – 542)	0,978
IL-27, uip	282 (156 – 415)	251,4 (158,4 – 406)	300 (170 – 383)	0,656
IL-32 α , uip	582 (281 – 976) ^a	442 (284 – 940) ^b	490 (241 – 801) ^b	0,001
IP-10, uip	786 (424 – 1375) ^a	1518 (787 – 3825) ^b	533 (179 – 1003) ^a	< 0,001
I-TAC, uip	519 (278 – 912)	503 (319 – 807)	503 (344 – 849)	0,936
MCP-1, uip	439 (232 – 824) ^a	675 (378 – 1028) ^b	387 (254 – 669) ^a	< 0,001
MIF, uip	5529 (4652 – 7003) ^a	7609 (6733 – 9934) ^b	6364 (4715 – 8374) ^a	< 0,001
MIP-1 α/β , uip	524 (268 – 878) ^a	490 (280 – 921) ^a	385 (229 – 913) ^b	0,034
Serpin E1, uip	44650 (34461 – 56664) ^a	36631 (31107 – 47622) ^{ab}	37291 (29136 – 47174) ^b	0,001
RANTES, uip	61983 (47488 – 71255) ^a	50689 (39347 – 65383) ^b	46564 (35238 – 60752) ^c	< 0,001
SDF-1, uip	4348 (3333-6126) ^a	4321 (2910 – 6629) ^a	2976 (2164 – 4596) ^b	< 0,001
TNF- α , uip	305 (149 – 584)	303 (203 – 584,0)	306 (148 – 472)	0,567
sTREM-1, uip	280 (177 – 533)	284 (195 – 583)	289 (177 – 508)	0,541
IL-18, uip	1058 (544 – 1576)	1055 (557 -1798)	1029 (581 – 1884)	0,385
IL-21, uip	411 (265 – 731)	414 (282 – 684)	414 (222 – 693)	0,203

Os resultados estão expressos como mediana e percentis 25-75.

* Teste de Friedman.

Valores em condições que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes (testes *post hoc* de comparações múltiplas).

uip, unidades de intensidade de pixels (quimioluminescência). As proteínas inflamatórias são designadas por abreviaturas internacionais que se encontram especificadas na lista de abreviaturas.

Na sequência, foi analisado o possível impacto das proteínas inflamatórias (amostras coletadas quatro horas após o término da CEC) sobre o comportamento hemodinâmico pós-operatório, representado pela variável PAP/PAS_{POI}. Para tanto, foi utilizada a ferramenta de regressão logística, sendo a variável resposta PAP/PAS_{POI} analisada de forma categórica, da mesma forma que no estudo de preditores pré-operatórios. Entre os marcadores analisados, dez mostraram possível associação com a ocorrência de PAP/PAS_{POI}>0,40, aparecendo na análise univariada com valor $p < 0,10$, como ilustrado na Tabela 13. Destacam-se as interleucinas 6 e 21, com razão de chances superior a 2,0. A partir deste ponto, decidiu-se por não se proceder à análise multivariada, uma vez que múltiplas interações biológicas entre os elementos inflamatórios seriam plausíveis, com eventual exclusão inapropriada de certas proteínas pelo modelo estatístico.

A análise bivariada foi utilizada com o objetivo de verificar se a presença de vírus respiratórios em material aspirado de traqueia tornaria mais expressiva a associação entre resposta inflamatória e comportamento hemodinâmico pulmonar hipertensivo. Ainda na Tabela 13, observa-se que a presença de material genético viral não somente esteve associada a razão de chances expressiva para a ocorrência de PAP/PAS_{POI}>0,40, mas também aumentou acima de 10% a razão de chances relacionada a três proteínas inflamatórias, a saber, IL-1RA, MIF e MCP-1.

Tabela 13 – Marcadores inflamatórios possivelmente associados ao comportamento hemodinâmico no pós-operatório inicial: análise univariada e bivariada.

Variáveis	Coeficiente	Razão de chances	I.C. de 95%		p*
			Limite inferior	Limite superior	
IL-1RA	0,583	1,79	1,02	3,14	0,041
IL-6	0,708	2,03	1,10	3,76	0,024
IL-10	0,599	1,82	1,00	3,31	0,049
IL-17E	0,558	1,75	0,98	3,13	0,061
MCP-1	0,468	1,60	0,92	2,78	0,096
MIF	0,583	1,79	1,02	3,14	0,041
MIP-1 α/β	0,558	1,75	0,98	3,13	0,061
TNF- α	0,522	1,69	0,94	3,02	0,079
IL-18	0,599	1,82	1,00	3,31	0,049
IL-21	0,818	2,27	1,23	4,19	0,009
IL-1RA	0,711	2,04 (aumento 14%)	1,09	3,81	0,026
Presença de material genético viral em traqueia	1,475	4,37	1,08	17,63	0,038
MIF	0,849	2,34 (aumento 31%)	1,15	4,74	0,019
Presença de material genético viral em traqueia	1,432	4,19	1,03	16,96	0,045
MCP-1	0,780	2,18 (aumento 36%)	1,07	4,43	0,031
Presença de material genético viral em traqueia	1,843	6,32	1,30	30,71	0,022

Os resultados foram obtidos usando análise de regressão logística. A razão de chances corresponde à observação de valores superiores a 0,40 para a variável PAP/PAS_{POI} (hemodinâmica do período pós-operatório inicial conforme definido anteriormente). Encontram-se dispostos os dez marcadores para os quais foi observado valor de $p < 0,10$ na análise univariada. A parte inferior da Tabela corresponde à análise bivariada, efetuada com a inclusão do fator *material genético viral presente em traqueia*. Os níveis de citocinas foram avaliados como quartis.

6.2.5. Eventos hemodinâmicos relevantes no pós-operatório

Entre os 60 pacientes participantes do estudo, 14 apresentaram eventos hemodinâmicos e respiratórios considerados relevantes, conforme definição prévia. Houve relação direta entre a ocorrência de tais eventos e o tempo de ventilação mecânica. Pacientes sem eventos permaneceram em ventilação mecânica por 7 (5 – 8) dias e, aqueles que tiveram eventos permaneceram intubados por 12 (10 – 15) dias ($p < 0,001$). Dada a importância dos eventos, procurou-se identificar, entre os fatores pré, peri e pós-operatórios, aqueles que poderiam ser caracterizados como preditores. Para tanto, utilizou-se procedimento de regressão logística, estando a análise univariada disposta na Tabela 14. Seis variáveis foram identificadas como possíveis preditores, com valores de $p < 0,10$: TAPSE, pressão média arterial pulmonar (PAP), pressão média arterial sistêmica (PAS) e a razão PAP/PAS após a CEC, PAP/PAS_{POI} e presença de material genético viral em traqueia. Entretanto, apenas a variável PAP/PAS_{POI} , caracterizada como fator de risco (razão de chances 7,58, I.C. 95% 1,84 – 31,29, $p = 0,005$) e a pressão arterial sistêmica após a saída de CEC, identificada como fator de proteção (razão de chances 0,46, I.C. 95% 0,24 – 0,89, $p = 0,021$), apareceram no modelo estatístico final como preditores. Assim sendo, a presença de material genético viral em traqueia, que apareceu na análise univariada com valor de $p = 0,097$, parece ter sido associada de maneira indireta à ocorrência de eventos pós-operatórios, na medida em que se relacionou à ocorrência de PAP/PAS_{POI} acima de 0,40, conforme demonstrado anteriormente.

Tabela 14 – Possíveis preditores de eventos relevantes no pós-operatório: análise univariada.

Variável	Coeficiente	Razão de chances	I.C. de 95%		p
			Limite inferior	Limite superior	
Idade	0,129	1,14	0,67	1,94	0,635
Gênero	-0,948	0,39	0,10	1,58	0,186
Peso	0,209	1,23	0,72	2,12	0,452
Estatura	-0,073	0,93	0,55	1,58	0,788
Síndrome de Down	-0,041	0,96	0,28	3,35	0,949
Tipo de cardiopatia DSAV versus CIV	-0,236	0,79	0,23	2,73	0,709
SpO ₂ pré-operatória	-0,207	0,81	0,49	1,36	0,433
Qp/Qs	-0,077	0,93	0,54	1,59	0,782
VTI VP	-0,017	0,98	0,58	1,67	0,950
TAPSE	-0,531	0,59	0,32	1,07	0,084
Tempo de CEC	-0,075	0,93	0,54	1,59	0,785
PAP pré-CEC	0,424	1,53	0,86	2,72	0,149
PAP/PAS pré-CEC	0,059	1,06	0,62	1,83	0,832
PAP pós-CEC	0,789	2,20	1,18	4,11	0,013
PAS pós-CEC	-0,773	0,46	0,24	0,89	0,021
PAP/PAS pós-CEC	0,965	2,62	1,32	5,20	0,006
PAP/PAS _{POI} >0,40	2,025	7,58	1,84	31,28	0,005
Presença de material genético de vírus respiratórios em traqueia	1,055	2,87	0,83	9,99	0,097

Os resultados foram obtidos usando análise de regressão logística. A razão de chances corresponde à ocorrência de eventos cardiorrespiratórios e hemodinâmicos conforme definidos. As variáveis numéricas foram testadas em quartis. CEC: circulação extracorpórea; CIV: comunicação interventricular; DSAV: defeito do septo atrioventricular; PAP: pressão média arterial pulmonar; PAS: pressão média arterial sistêmica; Qp/Qs: razão fluxo pulmonar/fluxo sistêmico; SpO₂: saturação periférica de oxigênio; TAPSE: excursão sistólica do anel tricúspide (medida da função ventricular direita); VTI VP: integral velocidade-tempo do fluxo em veia pulmonar (medida indireta do fluxo pulmonar).

6.2.6. Avaliação após a alta hospitalar

Os 58 pacientes que tiveram alta hospitalar foram avaliados seis meses após. Dez pacientes permaneceram em uso de sildenafila na dose de 1 a 3 mg/kg/dia, após a alta. A avaliação da hemodinâmica pulmonar ocorreu de forma não invasiva, através da ecocardiografia com Doppler, onde foi aferida a pressão sistólica arterial pulmonar. Cinquenta e cinco pacientes apresentaram curva do jato de regurgitação tricúspide suficientemente adequada para análise da pressão sistólica em ventrículo direito. Conforme ilustrado na Figura 15, verifica-se que os maiores níveis de pressão sistólica arterial pulmonar ocorreram em pacientes que tiveram $PAP/PAS_{POI} > 0,40$ associada à presença de material genético de vírus respiratórios em traqueia.

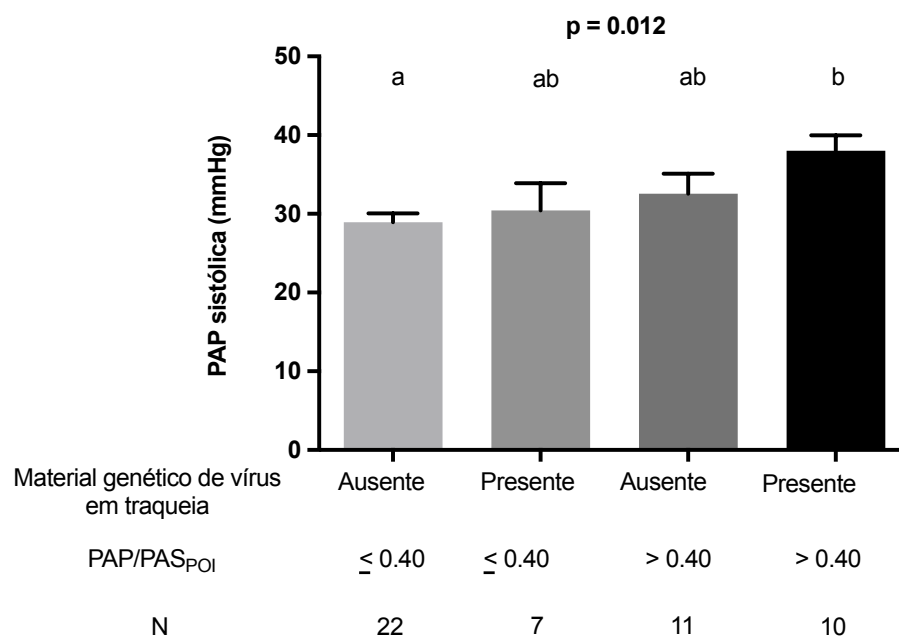


Figura 15 - Influência interativa dos genomas virais respiratórios e da hemodinâmica pós-operatória precoce (razão pressão média arterial pulmonar/sistêmica - PAP/PAS_{POI} , conforme definido) sobre a pressão sistólica arterial pulmonar seis meses após a alta hospitalar. São mostrados os resultados de pacientes para os quais foi possível analisar material genético viral em aspirados traqueais e pressão sistólica arterial pulmonar ao ecocardiograma pós-operatório de seis meses. Os dados foram analisados utilizando o modelo linear geral após transformação Box-Cox da variável dependente, e os resultados são apresentados como médias e erro padrão. Grupos que não compartilham a mesma letra foram diferentes em comparações múltiplas *post hoc*.

7. Discussão

7. Discussão

O presente estudo demonstrou associação entre a presença de material genético de vírus respiratórios em traqueia e o comportamento hemodinâmico pós-operatório de crianças com cardiopatias congênitas. Também se observou associação entre a saturação basal de oxigênio e o comportamento hemodinâmico pulmonar pós-operatório, sugerindo que alterações prévias no microambiente pulmonar, que podem incluir remodelamento de vias aéreas e vasos, influenciam o resultado após a cirurgia. A resposta inflamatória perioperatória parece se comportar com um dos gatilhos para esta evolução. Além disso, analisando o comportamento pós-operatório inicial das pressões arteriais pulmonar e sistêmica, encontrou-se associação entre este e a ocorrência de eventos de instabilização. A importância dos vírus respiratórios no cenário das cardiopatias congênitas e cirurgia cardíaca pediátrica tem sido estudada por sua relação com complicações respiratórias, que por sua vez tem papel no prolongamento do tempo em ventilação mecânica ⁽¹³¹⁾, na mortalidade pós-operatória ^(132,133), e no adiamento da indicação cirúrgica ⁽⁷³⁾. Também neste contexto, o aspecto epidemiológico tem sido abordado sob a ótica da profilaxia de infecções virais ⁽²¹⁾ e dos protocolos de testagem pré-operatória ^(134,135). As informações são mais restritas no tocante ao papel que a persistência de componentes virais teria, fora de estado infeccioso, sobre o curso pós-operatório.

Aos processos infecciosos recentes pré-operatórios, ou que incidem mais raramente como intercorrências eventuais no pós-operatório, somam-se as alterações inflamatórias decorrentes da cirurgia e do uso da circulação extracorpórea. No âmbito da cirurgia cardíaca pediátrica, o acometimento multissistêmico destes insultos e suas

consequências, têm sido estudados sob o ponto de vista de lesão tecidual^(98,107). Nos pulmões, o comprometimento da barreira alvéolo-capilar com prejuízo da troca gasosa, mediado por enzimas liberadas por neutrófilos, é fator descrito como consequência fisiopatológica do trauma cirúrgico, podendo acontecer em diversos níveis de gravidade^(104,106,107). Todos estes fatores permeiam a evolução do paciente submetido a tratamento cirúrgico de cardiopatias congênitas. Entretanto, o impacto deles sobre vasos e vasorreatividade, sobretudo pulmonar, não tem sido explorado. A possível associação entre vírus respiratórios e biologia vascular pulmonar nesta população, implicaria a participação destes agentes já a partir do período pré-operatório, com potencial impacto no processo de remodelamento.

Cabe discutir a forma como a exposição prévia a agentes virais teria se relacionado com a hemodinâmica pós-operatória. O modelo explicativo mais plausível seria aquele de um cenário pré-operatório multifatorial e complexo, com a participação de vírus no remodelamento tanto de vias aéreas como de vasos. Alterações no microambiente do pulmão distal seriam seguidas por modificações adicionais e agudas na passagem pelo momento cirúrgico. O cenário pré-operatório tem diversos componentes, muitos ainda não completamente estudados: alterações cromossômicas, genéticas e insultos intraútero, processos patológicos pré e pós-natais como a displasia broncopulmonar e a displasia alvéolo capilar, remodelamento de vias aéreas e (possivelmente) vasos em decorrência de exposição a agentes infecciosos e distúrbios hemodinâmicos (malformações cardíacas), além de outros elementos. A resultante final da maioria desses processos é o comprometimento da saturação sistêmica de oxigênio, atribuído, como regra geral, à existência ou instalação de “*shunts*” em nível pulmonar e cardíaco. Não sendo possível abordar todos estes fatores e analisar o impacto sobre o resultado

pós-operatório, este estudo se propôs a examinar preliminarmente o possível papel dos vírus respiratórios, dada a sua característica de fator de risco modificável, e a reconhecida prevalência na população pediátrica com cardiopatias congênitas.

No presente estudo, observou-se forte associação entre a saturação periférica de oxigênio e a hemodinâmica pulmonar inicial. A ausência de associação entre saturação de oxigênio e vírus na condição basal sugere que a mesma possa ter sido determinada em grande parte por “*shunt*” cardíaco e não por infecções recentes por aqueles agentes. Por outro lado, a inexistência de associação entre vírus e hemodinâmica inicial, e sua relação demonstrada com a hemodinâmica pós-operatória, sugere uma participação fisiopatológica inaparente num primeiro momento, mas gerando substrato para manifestação na fase seguinte. A hipótese que se coloca, a partir de vários dados experimentais de literatura, envolveria a replicação de células musculares lisas (em vias aéreas e vasos) mediada por aqueles agentes. Este processo conferiria um componente dinâmico à circulação pulmonar, menos aparente na situação pré-operatória, e manifesto mediante estímulos vasoconstritores diversos durante e a após a cirurgia.

O primeiro ponto a ser considerado, com relação à associação entre vírus e replicação celular no pulmão distal, é o fato de que vias aéreas e vasos formam um microambiente inseparável e indivisível naquela localização. Vasos distais recebem o nome da via aérea que acompanham, citando-se as arteríolas dos bronquíolos terminais, dos bronquíolos respiratórios e aquelas dos ductos alveolares ⁽¹³⁶⁾. Neste sentido, torna-se impossível admitir que fenômenos biológicos ocorrendo em uma estrutura (vias aéreas ou vasos) não tenham impacto sobre a outra. É conhecido o fato de que células epiteliais respiratórias infectadas por vírus expressam citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento com comprovado papel no remodelamento de vasos, como por exemplo as

interleucinas IL-1 β , IL-6, IL-16, TNF α , RANTES, IGF-1 e PDGF, entre outros fatores (90,94,137). A associação entre infecção pelo vírus sincicial respiratório e a expressão, por exemplo, da quimiocina RANTES, potencializada por IFN γ , é amplamente descrita (90,138), sendo este mediador inflamatório bem conhecido por seu papel tanto na asma quanto no remodelamento vascular (81,130). Rinovírus, os agentes mais prevalentes na amostra do presente estudo, são capazes de induzir a expressão de uma enorme variedade de mediadores inflamatórios, a maioria com efeitos conhecidos sobre a biologia vascular (137,139). Em particular, a proteína induzida por interferon-10 (IP-10) tem sua expressão deflagrada por rinovírus e potencializada pela resposta imune Th2 (91,96). Ambas, a quimiocina IP-10 e a resposta imune Th2, estão profundamente implicadas na proliferação e migração de células musculares lisas vasculares e no processo de remodelamento arterial pulmonar (65,97). Em nosso estudo, a ausência de alterações iniciais em proteínas inflamatórias comparativamente aos controles, à exceção do complemento (C5/C5a), não depõe contra uma possível ação de vírus respiratórios nos vasos pulmonares, envolvendo estes mediadores, uma vez que os mesmos foram analisados na fração sérica, não sendo possível excluir sua participação fisiopatológica em nível tecidual.

Concluindo a discussão sobre a possível participação de vírus respiratórios nos fenômenos biológicos que ocorrem no pulmão distal, cumpre interrogar se estes agentes, amplamente conhecidos por sua capacidade de acometer vias aéreas mais altas, seriam capazes de replicar e produzir efeitos em localizações mais periféricas. Embora a literatura atual não seja suficiente para generalizações a este respeito, alguns dados trazem esclarecimentos iniciais. Sabe-se, por exemplo, que certos tipos de rinovírus replicam em temperatura de 37°C (compatível com pulmão distal) tão bem quanto a 33°C

(vias aéreas extratorácicas), havendo outros que replicam melhor ainda na primeira situação⁽¹⁴⁰⁾. Estes dados sugerem que o material genético viral encontrado em traqueia, na presente casuística, pode não necessariamente representar condição de absoluta quiescência.

Dadas as características do cenário clínico e fisiopatológico inicial, envolvendo sobretudo o microambiente do pulmão distal e tendo os vírus respiratórios como prováveis modificadores de acordo com os dados apresentados, cumpre agora analisar as circunstâncias perioperatórias como potenciais “gatilhos” para alterações hemodinâmicas subsequentes e seus desdobramentos em termos de eventos clínicos. Não sendo possível, em um mesmo estudo, analisar todos os fatores implicados a não ser com finalidade descritiva (por exemplo, pormenores relacionados ao circuito extracorpóreo, uso de hemoderivados, administração de heparina e protamina, hipotermia e aquecimento, ultra filtração e procedimentos gerais de anestesia, em que pese as padronizações institucionais para a população pediátrica), decidimos estabelecer como foco a reação inflamatória sistêmica. No presente estudo, tal reação foi caracterizada por redução em linfócitos circulantes, aumento na razão neutrófilos/linfócitos e incremento mais modesto na população de monócitos, além de diminuição muito acentuada no número de plaquetas, com volume plaquetário médio aumentado, de forma expressiva (“*turnover*”), apenas a partir do primeiro dia de pós-operatório. A reação inflamatória sistêmica também foi caracterizada por modificações nos níveis circulantes de 15 entre as 36 proteínas inflamatórias analisadas, com incrementos na concentração de algumas e redução de outras. Caracteristicamente, houve redução no complemento sérico representado pela fração C5/C5a. A diminuição no nível da proteína de ligação CD40L provavelmente teve a redução de plaquetas como

um dos fatores causais, já que estas representam importante depósito daquela proteína em circulação ⁽¹⁴¹⁾.

Outro achado bastante característico foi a diminuição de RANTES sérico. Redução no nível circulante desta quimiocina tem sido descrita no contexto da cirurgia cardíaca pediátrica ^(130,142) em associação a fatores como tempo operatório, uso de drogas vasoativas e reoperação, neste sentido contribuindo como fator de risco pós-operatório relacionado à diminuição de linfócitos T ^(142,143). Diversas outras proteínas tiveram nível aumentado quatro horas após o final da circulação extracorpórea, seguido de certo declínio no dia seguinte, ainda sem normalização. Neste contexto, foi observado aumento nos níveis de citocinas caracteristicamente inflamatórias como IL-6 e IL-8, e de proteínas tipicamente anti-inflamatórias como IL1-RA.

O aparente impacto hemodinâmico da reação inflamatória sistêmica foi demonstrado pela associação entre os níveis pós-operatórios de dez proteínas e a variável PAP/PAS_{POI}, com valores de p inferiores a 0,10 em análise inicial univariada. Em três situações, a saber, para IL-1RA, MIF e MCP-1, o impacto pareceu mais expressivo quando se considerou a presença dos genomas virais no modelo estatístico (análise bivariada). Esta observação daria suporte à hipótese de que a partir de um “terreno” inicial (estrutura microvascular pulmonar) modificado pela exposição a agentes virais, a reação inflamatória sistêmica deflagrada pelo uso da circulação extracorpórea e outros fatores perioperatórios promoveria as condições (“gatilhos”) para uma resposta hemodinâmica pós-operatória mais acentuada.

No acompanhamento evolutivo da presente coorte, a exemplo de experiências anteriores em nosso serviço, houve três situações (momentos) que demandaram particular atenção no manejo dos pacientes. A primeira foi representada pelo período

pós-operatório inicial (12 a 24 horas), com comportamentos hemodinâmicos bem caracterizados e seus preditores identificados conforme descrito. A segunda situação correspondeu aos dias subsequentes (ainda em unidade intensiva), onde instabilidades pré-definidas como eventos incidiram em alguns casos, com consequências relevantes como o prolongamento do uso da ventilação mecânica, ocupação do leito e necessidade de manejo de comorbidades decorrentes. A terceira preocupação foi representada pela persistência, em alguns casos, de hemodinâmica pulmonar alterada seis meses após a alta, demandando seguimento mais longo e supervisionado, devido à possibilidade de evolução para hipertensão arterial pulmonar de difícil controle.

Tendo sido bem caracterizado o papel de marcadores pré-operatórios (saturação de oxigênio e presença de genomas virais em traqueia) na predição da hemodinâmica pós-operatória, cumpre assinalar que tais marcadores tiveram uma participação menos aparente na determinação dos eventos na unidade de tratamento intensivo. A hemodinâmica pós-operatória inicial apresentou-se como o principal determinante da ocorrência de tais eventos e da persistência de pressão pulmonar alterada após a alta. Não significa dizer que a presença dos genomas virais tenha se tornado destituída de significado fisiopatológico a partir de dado momento. Ressalte-se que o curso pós-operatório é repleto de novos fatores com impacto clínico no período e que, ainda assim, o achado de genomas virais em traqueia persistiu com valor de “p” inferior a 0,10 (especificamente, 0,097) na predição dos eventos. Passado o período de hospitalização com seus comemorativos, os genomas virais, identificados anteriormente à cirurgia, parecem reexpressar o seu significado fisiopatológico, ao se associar a níveis mais elevados de pressão pulmonar após a alta. Fica a dúvida sobre a permanência desse material genético nas vias aéreas por tempo prolongado no pós-operatório (não

investigado no presente estudo), e em caso positivo, a especulação sobre sua ação no remodelamento de vias aéreas e vasos em longo prazo.

8. Conclusões

8. Conclusões

A partir dos objetivos enunciados e com base nos dados observados no estudo, as seguintes conclusões são cabíveis para a população pediátrica no contexto do tratamento cirúrgico de comunicações cardíacas congênitas:

1. Material genético de vírus respiratórios pode ser identificado em nasofaringe e, com menor frequência, em vias aéreas mais baixas (traqueia) em pacientes considerados fora de estado infeccioso, durante o encaminhamento para cirurgia cardíaca.
2. Indivíduos com material genético viral presente em traqueia estão sob risco de apresentar comportamento hipertensivo da circulação pulmonar (relativamente à sistêmica) no período pós-operatório.
3. A redução da saturação periférica de oxigênio aferida na situação basal, pré-operatória, funciona como um modificador no sentido de incremento de risco, aumentando a probabilidade de ocorrência de comportamento hipertensivo pulmonar sobretudo nos portadores de genomas virais.
4. A situação de exposição prévia a vírus respiratórios e a reação inflamatória recente ao ato cirúrgico (que implica uso de circulação extracorpórea) parecem comportar-se como elemento predisponente e como “gatilho” (respectivamente) para a ocorrência de pressão pulmonar mais elevada em relação à sistêmica, no período pós-operatório.
5. A pressão arterial pulmonar considerada em relação à sistêmica, aferida nas primeiras horas do período pós-operatório, constitui importante fator de risco para

a ocorrência de eventos clínicos e hemodinâmicos durante o curso na unidade de cuidados intensivos.

6. Portadores de genomas virais em traqueia, na situação pré-operatória, e que evoluem com hemodinâmica pulmonar hipertensiva nas primeiras horas de pós-operatório, persistem com níveis mais elevados de pressão naquele território seis meses após a alta, comparativamente a indivíduos que não apresentam nenhuma destas duas condições.

9. Considerações Finais

9. Considerações finais

Tendo sido recordada a importância dos vírus respiratórios no contexto da cirurgia cardíaca pediátrica, sobretudo no que diz respeito à condição clínica geral para o encaminhamento cirúrgico, e à eventual ocorrência de infecção perioperatória com consequências nefastas, o presente estudo acrescenta informações sobre o comportamento hemodinâmico no subgrupo específico de indivíduos com defeitos septais e hipertensão pulmonar. Tais aspectos não haviam sido ainda explorados em estudo prospectivo envolvendo uma população com faixa etária específica, isto é, lactentes em sua maioria.

Os resultados incluem algumas observações interessantes com potenciais implicações. Em que pese a importância epidemiológica do vírus sincicial respiratório em infecções primárias e suas consequências conhecidas, o agente mais prevalente na população estudada, fora do estado infeccioso, foi o Rinovírus, tanto em vias aéreas altas como em traqueia. Sob ponto de vista fisiopatológico, foi interessante a observação de que o Rinovírus, por si só, foi capaz de responder pela associação com a hemodinâmica pós-operatória alterada. Estes achados justificam futuras investigações com foco nos subtipos de rinovírus e sua participação nos contextos explorados. Além disso, estudos envolvendo casuísticas mais amplas poderiam dar suporte ao envolvimento fisiopatológico de outros agentes virais específicos, que aparecem com menor prevalência no estudo atual.

Há outros aspectos relevantes a serem explorados no contexto dos vírus respiratórios, cardiopatias congênitas e hipertensão pulmonar. Embora no presente estudo os pacientes tenham sido avaliados, para efeito de pesquisa, até seis meses no

pós-operatório, sabe-se que uma pequena parcela destes indivíduos persiste com níveis acentuadamente elevados de pressão arterial pulmonar tardiamente à cirurgia, requerendo terapias específicas e atenção continuada. Cumpria investigar, por exemplo, se vírus respiratórios permanecem em replicação tardiamente nestes pacientes, e se haveria associação entre este fenômeno e a persistência de hipertensão pulmonar pós-operatória tardia. Tais aspectos não foram explorados no presente estudo. Metodologias específicas precisariam ser desenvolvidas para tal finalidade, inclusive envolvendo novas coletas de material. Entretanto, o propósito parece ser justificável.

Assim sendo, os dados atuais acrescentam singela mas significativa contribuição ao entendimento do funcionamento do microambiente do pulmão distal nesta população. Elementos genéticos também estão certamente presentes, assim como eventos da vida intrauterina e pós-natais, de modo a conferir complexidade considerável ao entendimento do problema clínico. Apesar disto, cada novo elemento descoberto ou acrescentado representa muito em termos de oferta de cuidados, desenvolvimento de estratégias terapêuticas e supervisão continuada desta população.

10. Referências¹

10. Referências

1. Hansmann G, Koestenberger M, Alastalo TP, Apitz C, Austin ED, Bonnet D, et al. 2019 updated consensus statement on the diagnosis and treatment of pediatric pulmonary hypertension: The European Pediatric Pulmonary Vascular Disease Network (EPPVDN), endorsed by AEPC, ESPR and ISHLT. *Journal of Heart and Lung Transplantation* [Internet]. 2019;38(9):879–901. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.healun.2019.06.022>
2. Arvanitaki A, Giannakoulas G, Baumgartner H, Lammers AE. Eisenmenger syndrome: diagnosis, prognosis and clinical management. *Heart*. 2020;106(21):1638–45.
3. Lopes AA. *Textbook of Pulmonary Vascular Disease*. Textbook of Pulmonary Vascular Disease. 2011.
4. Lopes AA, Barst RJ, Haworth SG, Rabinovitch M, Dabbagh M Al, Cerro MJ del, et al. Repair of Congenital Heart Disease with Associated Pulmonary Hypertension in Children: What are the Minimal Investigative Procedures? Consensus Statement from the Congenital Heart Disease and Pediatric Task Forces, Pulmonary Vascular Research Institute (P. *Pulm Circ*. 2014;4(2):330–41.
5. Humbert M, Guignabert C, Bonnet S, Dorfmüller P, Klinger JR, Nicolls MR, et al. Pathology and pathobiology of pulmonary hypertension: state of the art and research perspectives. *Eur Respir J* [Internet]. 2019;53(1). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1183/13993003.01887-2018>
6. Siefkes HM, Lakshminrusimha S. Management of systemic hypotension in term infants with persistent pulmonary hypertension of the newborn: An illustrated review. Vol. 106, *Archives of Disease in Childhood: Fetal and Neonatal Edition*. BMJ Publishing Group; 2021. p. 446–55.
7. Rosenzweig EB, Abman SH, Adatia I, Beghetti M, Bonnet D, Haworth S, et al. Paediatric pulmonary arterial hypertension: updates on definition, classification, diagnostics and management. *Eur Respir J* [Internet]. 2019;53(1). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1183/13993003.01916-2018>
8. Ahuja N, Mack WJ, Wu S, Wood JC, Russell CJ. Acute respiratory infections in hospitalised infants with congenital heart disease. *Cardiol Young*. 2021;31(4):547–55.
9. Thomaz AM, Kajita LJ, Aiello VD, Zorzanelli L, Galas FRBG, Machado CG, et al. Parameters associated with outcome in pediatric patients with congenital heart disease and pulmonary hypertension subjected to combined vasodilator and surgical treatments. *Pulm Circ*. 2019;9(3):1–28.
10. Golovenko O, Lazorhynets V, Prokopovych L, Truba Y, DiSessa T, Novick W. Early and long-term results of ventricular septal defect repair in children with severe pulmonary hypertension and elevated pulmonary vascular resistance by the double

or traditional patch technique. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 11 de julho de 2022;62(2).

11. Lindberg L. Long-Term Follow-Up of Pediatric Patients with Severe Postoperative Pulmonary Hypertension After Correction of Congenital Heart Defects. *Pediatr Cardiol* [Internet]. 2021;(0123456789). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00246-021-02794-9>
12. Leopold JA, Maron BA. Molecular mechanisms of pulmonary vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension. Vol. 17, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2016.
13. Thenappan T, Ormiston ML, Ryan JJ, Archer SL. Pulmonary arterial hypertension: Pathogenesis and clinical management. Vol. 360, *BMJ (Online)*. 2018.
14. Thompson AAR, Lawrie A. Targeting Vascular Remodeling to Treat Pulmonary Arterial Hypertension. Vol. 23, *Trends in Molecular Medicine*. Elsevier Ltd; 2017. p. 31–45.
15. VIGNOCHI L, GONÇALO CR, ROJAS LEZANA ÁG. COMO GESTORES HOSPITALARES UTILIZAM INDICADORES DE DESEMPENHO? *Revista de Administração de Empresas* [Internet]. outubro de 2014 [citado 4 de agosto de 2023];54(5):496–509. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75902014000500496&lng=pt&tlng=pt
16. Barman SA, Li X, Haigh S, Kondrikov D, Mahboubi K, Bordan Z, et al. Galectin-3 is expressed in vascular smooth muscle cells and promotes pulmonary hypertension through changes in proliferation, apoptosis, and fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* [Internet]. 2019;316:784–97. Disponível em: <https://imagej.nih.gov/ij/>
17. Ramakrishnan S, Anand V, Roy S. Vascular endothelial growth factor signaling in hypoxia and inflammation. Vol. 9, *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. Springer New York LLC; 2014. p. 142–60.
18. Hassoun PM, Mouthon L, Barberà JA, Eddahibi S, Flores SC, Grimminger F, et al. Inflammation, Growth Factors, and Pulmonary Vascular Remodeling. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2009;54(1 SUPPL. 1):S10–9. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2009.04.006>
19. Rabinovitch M, Guignabert C, Humbert M, Nicolls MR. Inflammation and immunity in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *Circ Res*. 20 de junho de 2014;115(1):165–75.
20. Jia D, Bai P, Wan N, Liu J, Zhu Q, He Y, et al. Niacin Attenuates Pulmonary Hypertension Through H-PGDS in Macrophages. *Circ Res*. 23 de outubro de 2020;127(10):1323–36.

21. Joshi M, Tulloh RMR. Respiratory virus prophylaxis in congenital heart disease. *Future Cardiol.* 1º de setembro de 2018;14(5):417–25.
22. Taylor S, Lopez P, Weckx L, Borja-Tabora C, Ulloa-Gutierrez R, Lazcano-Ponce E, et al. Respiratory viruses and influenza-like illness: Epidemiology and outcomes in children aged 6 months to 10 years in a multi-country population sample. *Journal of Infection.* 2017;74(1):29–41.
23. Brasier AR. RSV reprograms the CDK9•BRD4 chromatin remodeling complex to couple innate inflammation to airway remodeling. Vol. 12, *Viruses.* MDPI AG; 2020.
24. Brasier AR. Therapeutic targets for inflammation-mediated airway remodeling in chronic lung disease. Vol. 12, *Expert Review of Respiratory Medicine.* Taylor and Francis Ltd.; 2018. p. 931–9.
25. Bush A. Cytokines and chemokines as biomarkers of future asthma. Vol. 7, *Frontiers in Pediatrics.* Frontiers Media S.A.; 2019.
26. Heath D, Helmholtz HF, Burchell HB, Dushane JW, Kirklin JW, Edwards JE. Relation between Structural Changes in the Small Pulmonary Arteries and the Immediate Reversibility of Pulmonary Hypertension Following Closure of Ventricular and Atrial Septal Defects [Internet]. Disponível em: <http://ahajournals.org>
27. Rabinovitch M, Keane JF, Norwood WI, Castaneda AR, Reid L. CONGENITAL HEART DISEASE Vascular structure in lung tissue obtained at biopsy correlated with pulmonary hemodynamic findings after repair of congenital heart defects [Internet]. *PATHOPHYSIOLOGY AND NATURAL HISTORY.* Disponível em: <http://ahajournals.org>
28. Ramjug S, Weatherald J, Sahay S, Khoury J, Foris V, Chandran N, et al. ERS International Congress, Madrid, 2019: highlights from the Pulmonary Vascular Diseases Assembly. *ERJ Open Res* [Internet]. 2020;6(4):00304–2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1183/23120541.00304-2020>
29. Walter R, Hunter K, Stenmark K, Kheyfets VO. Hemodynamically Unloading the Distal Pulmonary Circulation in Pulmonary Hypertension: A Modeling Study. *J Biomech Eng.* 1º de fevereiro de 2022;144(2).
30. Bush D, Galambos C, Dunbar Ivy D. Pulmonary hypertension in children with Down syndrome. *Pediatr Pulmonol.* 2021;56(3):621–9.
31. Bush D, Galambos C, Ivy DD, Abman SH, Wolter-warmerdam K, Hickey F. Clinical Characteristics and Risk Factors for Developing Pulmonary Hypertension in Children with Down Syndrome. *J Pediatr* [Internet]. 2018; Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2018.06.031>
32. Jain A, McNamara PJ. Persistent pulmonary hypertension of the newborn: Advances in diagnosis and treatment. *Semin Fetal Neonatal Med* [Internet]. 2015;20(4):262–71. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.siny.2015.03.001>

33. Grimmer B, Kuebler WM. The endothelium in hypoxic pulmonary vasoconstriction. *J Appl Physiol* [Internet]. 2017;123:1635–46. Disponível em: <http://www.jappt.org>
34. Hughes JMB. Hypoxic pulmonary vasoconstriction: clinical implications. *European Respiratory Journal* [Internet]. 2016;47(1):31–4. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1183/13993003.01753-2015>
35. Danopoulos S, Deutsch GH, Dumortier C, Mariani TJ, Al Alam D. Lung disease manifestations in down syndrome. Vol. 321, *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*. American Physiological Society; 2021. p. L892–9.
36. Wang B, Verrocchi J, Liew D, Zentner D. Does Down syndrome influence the outcomes of congenital cardiac surgery? A systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J Qual Care Clin Outcomes*. 24 de maio de 2022;
37. Zeng X, An J, Lin R, Dong C, Zheng A, Li J, et al. Prediction of complications after paediatric cardiac surgery. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*. 2020;57(2):350–8.
38. Thomas AS, Vinocur JM, Oster ME, Louis DS. Trends in Long-Term Mortality After Congenital Heart Surgery. 2018;71(21).
39. Deng B, Du J, Hu R, Wang AP, Wu WH, Hu CP, et al. MicroRNA-103/107 is involved in hypoxia-induced proliferation of pulmonary arterial smooth muscle cells by targeting HIF-1 β . *Life Sci*. 15 de fevereiro de 2016;147:117–24.
40. Zloto K, Tirosh-Wagner T, Bolkier Y, Bar-Yosef O, Vardi A, Mishali D, et al. Preoperative miRNA-208a as a Predictor of Postoperative Complications in Children with Congenital Heart Disease Undergoing Heart Surgery. *J Cardiovasc Transl Res*. 1 $^{\circ}$ de abril de 2020;13(2):245–52.
41. Wang XY, Mo D, Tian W, Liu XX, Zhou YG, Sun Y, et al. Inhibition of RhoA/ROCK signaling pathway ameliorates hypoxic pulmonary hypertension via HIF-1 α -dependent functional TRPC channels. *Toxicol Appl Pharmacol*. 15 de abril de 2019;369:60–72.
42. Wakasugi T, Shimizu I, Yoshida Y, Hayashi Y, Ikegami R, Suda M, et al. Role of smooth muscle cell p53 in pulmonary arterial hypertension. *PLoS One*. 1 $^{\circ}$ de fevereiro de 2019;14(2).
43. Gupte SA, Wolin MS. Oxidant and redox signaling in vascular oxygen sensing: Implications for systemic and pulmonary hypertension. *Antioxid Redox Signal*. 2008;10(6):1137–52.
44. Weir EK, Archer SL. The role of redox changes in oxygen sensing. Vol. 174, *Respiratory Physiology and Neurobiology*. 2010. p. 182–91.

45. Park WH, Han BR, Park HK, Kim SZ. Arsenic trioxide induces growth inhibition and death in human pulmonary artery smooth muscle cells accompanied by mitochondrial O₂^{•-} increase and GSH depletion. *Environ Toxicol*. 1º de agosto de 2018;33(8):833–40.
46. Park WH. Treatment with a JNK inhibitor increases, whereas treatment with a p38 inhibitor decreases, H₂O₂-induced calf pulmonary arterial endothelial cell death. *Oncol Lett*. 2017;14(2):1737–44.
47. Park WH. Exogenous H₂O₂ induces growth inhibition and cell death of human pulmonary artery smooth muscle cells via glutathione depletion. *Mol Med Rep*. 1º de julho de 2016;14(1):936–42.
48. Zhang Y, Alexander PB, Wang XF. TGF- β family signaling in the control of cell proliferation and survival. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 1º de abril de 2017;9(4).
49. Maeda NY, Aiello VD, Santos PC, Thomaz AM, Kajita LJ, Bydlowski SP, et al. Relation of macrophage migration inhibitory factor to pulmonary hemodynamics and vascular structure and carbamyl-phosphate synthetase I genetic variations in pediatric patients with congenital cardiac shunts. *Mediators Inflamm*. 2019;2019.
50. Ma Y, Chen SS, Feng YY, Wang HL. Identification of novel biomarkers involved in pulmonary arterial hypertension based on multiple-microarray analysis. *Biosci Rep*. 1º de setembro de 2020;40(9).
51. Yuan SM. Pulmonary artery hypertension in childhood: The transforming growth factor- β superfamily-related genes. *Pediatr Neonatol* [Internet]. 2018;59(2):112–9. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2016.12.008>
52. Zhang H, Dale Brown R, Stenmark KR, Hu CJ. RNA-binding proteins in pulmonary hypertension. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2020.
53. Ruffenach G, Medzikovic L, Aryan L, Li M, Eghbali M. HNRNPA2B1: RNA-Binding Protein That Orchestrates Smooth Muscle Cell Phenotype in Pulmonary Arterial Hypertension. *Circulation*. 18 de outubro de 2022;146(16):1243–58.
54. Turton HA, Thompson AAR, Farkas L. Rna signaling in pulmonary arterial hypertension—a double-stranded sword. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2020.
55. He S, Ma C, Zhang L, Bai J, Wang X, Zheng X, et al. GLI1-mediated pulmonary artery smooth muscle cell pyroptosis contributes to hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* [Internet]. 2020;318:472–82. Disponível em: www.ajplung.org
56. Shen H, Zhang J, Wang C, Jain PP, Xiong M, Shi X, et al. MDM2-Mediated Ubiquitination of Angiotensin-Converting Enzyme 2 Contributes to the Development of Pulmonary Arterial Hypertension. *Circulation*. 22 de setembro de 2020;142(12):1190–204.

57. Awad KS, West JD, de Jesus Perez V, MacLean M. Novel signaling pathways in pulmonary arterial hypertension (2015 Grover Conference Series). Vol. 6, Pulmonary Circulation. 2016.
58. Kurahara LH, Hiraishi K, Yamamura A, Zhang Y, Abe K, Yahiro E, et al. Eicosapentaenoic acid ameliorates pulmonary hypertension via inhibition of tyrosine kinase Fyn. *J Mol Cell Cardiol.* 1º de novembro de 2020;148:50–62.
59. Shen Y, Goncharov DA, Avolio T, Ray A, Okorie E, DeLisser H, et al. Differential effects of integrin-linked kinase inhibitor Cpd22 on severe pulmonary hypertension in male and female rats. *Pulm Circ.* 1º de janeiro de 2020;10(1).
60. Groth A, Vrugt B, Brock M, Speich R, Ulrich S, Huber LC. Inflammatory cytokines in pulmonary hypertension. Vol. 15, Respiratory Research. BioMed Central Ltd.; 2014.
61. Liu J, Wang W, Wang L, Chen S, Tian B, Huang K, et al. IL-33 Initiates Vascular Remodelling in Hypoxic Pulmonary Hypertension by up-Regulating HIF-1 α and VEGF Expression in Vascular Endothelial Cells. *EBioMedicine.* 1º de julho de 2018;33:196–210.
62. Zhang H, Wang D, Li M, Plecítá-Hlavatá L, D'Alessandro A, Tauber J, et al. Metabolic and Proliferative State of Vascular Adventitial Fibroblasts in Pulmonary Hypertension Is Regulated Through a MicroRNA-124/PTBP1 (Polypyrimidine Tract Binding Protein 1)/Pyruvate Kinase Muscle Axis. *Circulation.* 19 de dezembro de 2017;136(25):2468–85.
63. Pullamsetti SS, Seeger W, Savai R. Classical IL-6 signaling: A promising therapeutic target for pulmonary arterial hypertension. Vol. 128, Journal of Clinical Investigation. American Society for Clinical Investigation; 2018. p. 1720–3.
64. Pena E, Brito J, El Alam S, Siques P. Oxidative stress, kinase activity and inflammatory implications in right ventricular hypertrophy and heart failure under hypobaric hypoxia. Vol. 21, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2020. p. 1–17.
65. Daley E, Emson C, Guignabert C, de Waal Malefyt R, Louten J, Kurup VP, et al. Pulmonary arterial remodeling induced by a Th2 immune response. *J Exp Med.* 2008;205(2):361–72.
66. Li R, Wang F, Wei J, Lin Y, Tang G, Rao L, et al. The role of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in asthmatic airway remodeling. *Allergy Asthma Immunol Res.* 1º de janeiro de 2021;13(1):88–105.
67. Jalce G, Guignabert XC. Multiple roles of macrophage migration inhibitory factor in pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* [Internet]. 2020;318:1–9. Disponível em: www.ajplung.org

68. Loukanov T, Hoss K, Tonchev P, Klimpel H, Arnold R, Sebening C, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism (Glu298Asp) and acute pulmonary hypertension post cardiopulmonary bypass in children with congenital cardiac diseases. *Cardiol Young*. abril de 2011;21(2):161–9.
69. Canter JA, Summar ML, Smith HB, Rice GD, Hall LD, Ritchie MD, et al. Genetic variation in the mitochondrial enzyme carbamyl-phosphate synthetase I predisposes children to increased pulmonary artery pressure following surgical repair of congenital heart defects: A validated genetic association study. *Mitochondrion*. maio de 2007;7(3):204–10.
70. Earson ILP, Heila S, Awling D, Alsh IFW, Onathan J, Aines LH, et al. The New England Journal of Medicine NEONATAL PULMONARY HYPERTENSION Urea-Cycle Intermediates, Nitric Oxide Production, and Carbamoyl-Phosphate Synthetase Function A BSTRACT Background Endogenous production of nitric oxide [Internet]. Vol. 344, *N Engl J Med*. 2001. Disponível em: www.nejm.org
71. Zorzanelli L, Maeda N, Clavé M, Thomaz A, Galas F, Rabinovitch M, et al. Relation of Cytokine Profile to Clinical and Hemodynamic Features in Young Patients With Congenital Heart Disease and Pulmonary Hypertension. *American Journal of Cardiology*. 2017;119(1).
72. Zorzanelli L, Maeda NY, Clavé MM, Aiello VD, Rabinovitch M, Lopes AA. Serum Cytokines in Young Pediatric Patients with Congenital Cardiac Shunts and Altered Pulmonary Hemodynamics. 2016;2016.
73. Medrano López C, García-Guereta Silva L, Lirio Casero J, García Pérez J. Infecciones respiratorias, síndrome de Down y cardiopatías congénitas: Estudio CIVIC 21. *An Pediatr (Engl Ed)*. julho de 2009;71(1):38–46.
74. Abman SH. Pulmonary Hypertension: The Hidden Danger for Newborns. *Neonatology*. 2021;118(2):211–7.
75. Carvalho CG, Procianoy RS, Neto EC, Silveira RC. Preterm neonates with respiratory distress syndrome: Ventilator-induced lung injury and oxidative stress. *J Immunol Res*. 2018;2018:28–31.
76. Geun Lee C, Joo Yoon H, Zhu Z, Link H, Wang Z, Gwaltney JM, et al. Respiratory Syncytial Virus Stimulation of Vascular Endothelial Cell Growth Factor/Vascular Permeability Factor [Internet]. Vol. 23, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol*. 2000. Disponível em: www.atsjournals.org
77. Sun L, Cornell TT, Levine A, Berlin AA, Hinkovska-Galcheva V, Fleszar AJ, et al. Dual role of interleukin-10 in the regulation of respiratory syncytial virus (RSV)-induced lung inflammation. *Clin Exp Immunol*. maio de 2013;172(2):263–79.
78. Pump KK. Distribution of bronchial arteries in the human lung. *Chest* [Internet]. 1972;62(4):447–51. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1378/chest.62.4.447>

79. West JB. Comparative physiology of the pulmonary circulation. *Compr Physiol*. julho de 2011;1(3):1525–39.
80. Greiller CL, Martineau AR. Modulation of the immune response to respiratory viruses by vitamin D. *Nutrients*. 2015;7(6):4240–70.
81. Mansbach JM, Ying Q (Shelly), Espinola JA, Hasegawa K, Sullivan AF, Camargo CA. Recurrent wheezing phenotypes after severe bronchiolitis and progression to asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: Global*. fevereiro de 2023;2(1):84–7.
82. Binns E, Tuckerman J, Licciardi P V., Wurzel D. Respiratory syncytial virus, recurrent wheeze and asthma: A narrative review of pathophysiology, prevention and future directions. Vol. 58, *Journal of Paediatrics and Child Health*. John Wiley and Sons Inc; 2022. p. 1741–6.
83. Rossi GA, Colin AA. Infantile respiratory syncytial virus and human rhinovirus infections: respective role in inception and persistence of wheezing. :774–89. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1183/09031936.00062714>
84. De Silva D, Dagher H, Ghildyal R, Lindsay M, Li X, Freezer NJ, et al. Vascular endothelial growth factor induction by rhinovirus infection. *J Med Virol*. maio de 2006;78(5):666–72.
85. Hu Y, Chi L, Kuebler WM, Goldenberg NM. Perivascular Inflammation in Pulmonary Arterial Hypertension. Vol. 9, *Cells*. NLM (Medline); 2020.
86. Berne RM. *Fisiologia*. 6º ed. Mathew N, organizador. Vol. 62. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010. 178–207 p.
87. Wu YP, Sun DD, Wang Y, Liu W, Yang J. Herpes Simplex Virus Type 1 and Type 2 Infection Increases Atherosclerosis Risk: Evidence Based on a Meta-Analysis. *Biomed Res Int*. 2016;2016.
88. Zhu W, Liu S. The role of human cytomegalovirus in atherosclerosis: A systematic review. Vol. 52, *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. Oxford University Press; 2020. p. 339–53.
89. Idris NS, Uiterwaal CSPM, Burgner DP, Grobbee DE, Kurniati N, Cheung MMH. Effects of HIV Infection on Pulmonary Artery Pressure in Children. *Glob Heart [Internet]*. 2019;14(4):367–72. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.gheart.2019.08.006>
90. Jartti T, Bønnelykke K, Elenius V, Feleszko W. Role of viruses in asthma. Vol. 42, *Seminars in Immunopathology*. Springer; 2020. p. 61–74.
91. Wood LG, Powell H, Grissell T V., Davies B, Shafren DR, Whitehead BF, et al. Persistence of rhinovirus RNA and IP-10 gene expression after acute asthma. *Respirology*. fevereiro de 2011;16(2):291–9.

92. Mehta AK, Croft M. Rhinovirus Infection Promotes Eosinophilic Airway Inflammation after Prior Exposure to House Dust Mite Allergen. *Immunohorizons*. 2020;4(8):498–507.
93. Simpson J, Loh Z, Ullah MA, Lynch JP, Werder RB, Collinson N, et al. Respiratory Syncytial Virus Infection Promotes Necroptosis and HMGB1 Release by Airway Epithelial Cells. *Am J Respir Crit Care Med*. 1º de junho de 2020;201(11):1358–71.
94. Chun YH, Park JY, Lee H, Kim HS, Won S, Joe HJ, et al. Rhinovirus-infected epithelial cells produce more IL-8 and rantes compared with other respiratory viruses. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2013;5(4):216–23.
95. Lin CS, Hsieh PS, Hwang LL, Lee YH, Tsai SH, Tu YC, et al. The CCL5/CCR5 Axis Promotes Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation and Atherogenic Phenotype Switching. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 1º de junho de 2018;47(2):707–20.
96. Cakebread JA, Haitchi HM, Xu Y, Holgate ST, Roberts G, Davies DE. Rhinovirus-16 induced release of IP-10 and IL-8 is augmented by Th2 cytokines in a pediatric bronchial epithelial cell model. *PLoS One*. 4 de abril de 2014;9(4).
97. Wang X, Yue TL, Ohlstein EH, Sung CP, Feuerstein GZ. Interferon-inducible protein-10 involves vascular smooth muscle cell migration, proliferation, and inflammatory response. *Journal of Biological Chemistry*. 1996;271(39):24286–93.
98. Hirata Y. Cardiopulmonary bypass for pediatric cardiac surgery. *Gen Thorac Cardiovasc Surg* [Internet]. 2018;66(2):65–70. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s11748-017-0870-1>
99. Giacinto O, Satriano U, Nenna A, Spadaccio C, Lusini M, Mastroianni C, et al. Inflammatory Response and Endothelial Dysfunction Following Cardiopulmonary Bypass: Pathophysiology and Pharmacological Targets. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*. 2019;13(2):158–73.
100. Becker AC, Lantz CW, Forbess JM, Epting CL, Thorp EB. Cardiopulmonary Bypass-Induced Inflammation and Myocardial Ischemia and Reperfusion Injury Stimulates Accumulation of Soluble MER. *Pediatric Critical Care Medicine*. 2021;822–31.
101. Kefalogianni R, Kamani F, Gaspar M, Aw T, Donovan J, Laffan M, et al. Complement activation during cardiopulmonary bypass and association with clinical outcomes. *EJHaem*. fevereiro de 2022;3(1):86–96.
102. Tu LN, Hsieh L, Kajimoto M, Charette K, Kibiryeveva N, Forero A, et al. Shear stress associated with cardiopulmonary bypass induces expression of inflammatory cytokines and necroptosis in monocytes. 2021; Disponível em: <https://doi.org/10.1172/jci>.

103. Kozik DJ, Tweddell JS. Characterizing the Inflammatory Response to Cardiopulmonary Bypass in Children. *Annals of Thoracic Surgery*. 2006;81(6).
104. Pierce RW, Zahr RA, Kandil S, Faustino VS, Pober JS. Sera from children after cardiopulmonary bypass reduces permeability of capillary endothelial cell barriers. *Pediatric Critical Care Medicine*. 2018;19(7):609–18.
105. LoBasso M, Schneider J, Sanchez-Pinto LN, Del Castillo S, Kim G, Flynn A, et al. Acute kidney injury and kidney recovery after cardiopulmonary bypass in children. *Pediatric Nephrology*. 1º de março de 2022;37(3):659–65.
106. Simonato M, Padalino M, Vedovelli L, Carollo C, Sartori A, Vida V, et al. Effect of preoperative pulmonary hemodynamic and cardiopulmonary bypass on lung function in children with congenital heart disease. *Eur J Pediatr*. 1º de junho de 2023;
107. Asfari A, Hock KM, Byrnes JW, Borasino S, Halloran BA, Mobley JA, et al. Biomarkers for Adverse Lung Injury Following Pediatric Cardiopulmonary Bypass. *Crit Care Explor*. 7 de setembro de 2021;3(9):e0528.
108. Abu-Halima M, Poryo M, Ludwig N, Mark J, Marsollek I, Giebels C, et al. Differential expression of microRNAs following cardiopulmonary bypass in children with congenital heart diseases. *J Transl Med*. 30 de maio de 2017;15(1).
109. Krispinsky LT, Stark RJ, Parra DA, Luan L, Bichell DP, Pietsch JB, et al. Endothelial-Dependent Vasomotor Dysfunction in Infants after Cardiopulmonary Bypass. *Pediatric Critical Care Medicine*. 1º de janeiro de 2020;21(1):42–9.
110. Geier L, Menzel C, Germund I, Trieschmann U. RACHS-1 score as predictive factor for postoperative ventilation time in children with congenital heart disease. *Cardiol Young*. 2020;30(2):213–8.
111. Nasser BA, Mesned AR, Mohamad T, Kabbani MS. Incidence and causes of prolonged mechanical ventilation in children with Down syndrome undergoing cardiac surgery. *J Saudi Heart Assoc [Internet]*. 2018;30(3):247–53. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jsha.2018.01.004>
112. Souza MFS, Penha JG, Maeda NY, Galas FRBG, Abud KCO, Carvalho ES, et al. Postoperative Pulmonary Hemodynamics and Systemic Inflammatory Response in Pediatric Patients Undergoing Surgery for Congenital Heart Defects. *Mediators Inflamm*. 2022;2022:1–12.
113. Carvalho E, Mariafrancilene SS, Kellycristina OA, Castro CP, Penha J, Thomaz A, et al. Prediction of Pulmonary Arterial Pressure Level after Repair of Congenital Cardiac Communications and Discharge from the Hospital: Role of Down Syndrome and Early Postoperative Hemodynamics. *Congenit Heart Dis*. 2022;17(3):351–63.
114. Dunham-Snary KJ, Wu D, Sykes EA, Thakrar A, Parlow LRG, Mewburn JD, et al. Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction: From Molecular Mechanisms to Medicine.

Chest [Internet]. 2017;151(1):181–92. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chest.2016.09.001>

115. Lasa JJ, Gaies M, Bush L, Zhang W, Banerjee M, Alten JA, et al. Epidemiology and Outcomes of Acute Decompensated Heart Failure in Children. *Circ Heart Fail.* 2020;(April).
116. Crow SS, Robinson JA, Burkhart HM, Dearani JA, Golden AW. Duration and magnitude of vasopressor support predicts poor outcome after infant cardiac operations. *Annals of Thoracic Surgery* [Internet]. 2014;98(2):655–61. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.athoracsur.2014.04.041>
117. Tabib A, Abrishami S, Mahdavi M, Mortezaeian H, Totonchi Z. Predictors of prolonged mechanical ventilation in pediatric patients after cardiac surgery for congenital heart disease. *Res Cardiovasc Med.* 2016;5(3):3.
118. Lei Lei E, Ladha K, Mueller B, Roche L, Rao V, Hickey E, et al. Noncardiac determinants of death and intensive care morbidity in adult congenital heart disease surgery. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery.* 1º de junho de 2020;159(6):2407-2415.e2.
119. Spector LG, Menk JS, Knight JH, McCracken C, Thomas AS, Vinocur JM, et al. Trends in Long-Term Mortality After Congenital Heart Surgery. *J Am Coll Cardiol.* 29 de maio de 2018;71(21):2434–46.
120. Padalino MA, Vedovelli L, Simonato M, Bandini A, Paganini G, Mezzalira L, et al. Protective continuous ventilation strategy during cardiopulmonary bypass in children undergoing surgery for congenital heart disease: A prospective study. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 1º de agosto de 2022;35(2).
121. Sun Y, Shen SE, Deng XM, Cai Y, Du Y. Lung protective ventilation in infants undergoing cardiopulmonary bypass surgery for congenital heart disease: A prospective randomized controlled trial. *Paediatr Anaesth.* 2020;30(7):814–22.
122. Vedrenne-Cloquet M, Khirani S, Khemani R, Lesage F, Oualha M, Renolleau S, et al. Pleural and transpulmonary pressures to tailor protective ventilation in children. Disponível em: <http://thorax.bmj.com/>
123. Crow SS, Robinson JA, Burkhart HM, Dearani JA, Golden AW. Duration and magnitude of vasopressor support predicts poor outcome after infant cardiac operations. *Annals of Thoracic Surgery.* 2014;98(2):655–61.
124. Lei Lei E, Ladha K, Mueller B, Roche L, Rao V, Hickey E, et al. Noncardiac determinants of death and intensive care morbidity in adult congenital heart disease surgery. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery.* 1º de junho de 2020;159(6):2407-2415.e2.

125. Seese L, Morell VO, Viegas M, Keebler M, Hickey G, Wang Y, et al. A Risk Score for Adults With Congenital Heart Disease Undergoing Heart Transplantation. Em: *Annals of Thoracic Surgery*. Elsevier Inc.; 2021. p. 2033–40.
126. Yamazaki Y, Oba K, Matsui Y, Morimoto Y. Vasoactive-inotropic score as a predictor of morbidity and mortality in adults after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *J Anesth [Internet]*. 2018;32(2):167–73. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00540-018-2447-2>
127. Verçosa Z, Ribeiro S, Tsutsui JM, Dos R, Miranda A, Mohry S, et al. Ecocardiografia-Doppler e Parâmetros Hemodinâmicos em Cardiopatias Congênitas com Hiperfluxo Pulmonar [Internet]. Disponível em: <http://www.arquivosonline.com.br>
128. Rivera IR, Mendonça MA, Andrade JL, Moises V, Campos O, Silva CC, et al. Pulmonary venous flow index as a predictor of pulmonary vascular resistance variability in congenital heart disease with increased pulmonary flow: A comparative study before and after oxygen inhalation. *Echocardiography*. setembro de 2013;30(8):952–60.
129. Koestenberger M, Ravekes W, Everett AD, Stueger HP, Heinzl B, Gamillscheg A, et al. Right Ventricular Function in Infants, Children and Adolescents: Reference Values of the Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion (TAPSE) in 640 Healthy Patients and Calculation of z Score Values. *Journal of the American Society of Echocardiography*. junho de 2009;22(6):715–9.
130. Souza MFS, Carvalho ES, Maeda NY, Thomaz AM, Zorzanelli L, Castro CR, et al. Macrophage migration inhibitory factor and chemokine RANTES in young pediatric patients with congenital cardiac communications: Relation to hemodynamic parameters and the presence of Down syndrome. *Cytokine [Internet]*. 2020;134(June):155192. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2020.155192>
131. Chaw PS, Wong SWL, Cunningham S, Campbell H, Mikolajczyk R, Nair H. Acute lower respiratory infections associated with respiratory syncytial virus in children with underlying congenital heart disease: Systematic review and meta-analysis. Vol. 222, *Journal of Infectious Diseases*. Oxford University Press; 2020. p. 613–9.
132. Castelli JB, Maeda WT, Aiello VD. Respiratory syncytial virus as a trigger of a pulmonary hypertensive crisis after operative correction of aortic coarctation. *Cardiol Young*. 2007;17(2):223–5.
133. Samuel N, Hershkovitz T, Brik R, Lorber A, Shavit I. Diagnosing heart failure in children with congenital heart disease and respiratory syncytial virus bronchiolitis. *American Journal of Emergency Medicine*. 1º de dezembro de 2014;32(12):1510–2.

134. Delgado-Corcoran C, Blaschke AJ, Ou Z, Presson AP, Burch PT, Pribble CG, et al. Respiratory Testing and Hospital Outcomes in Asymptomatic Infants Undergoing Heart Surgery. *Pediatr Cardiol*. 15 de fevereiro de 2019;40(2):339–48.
135. Silva TH da, Pinho JRR, Silva Junior TJ da, Carmona F. Epidemiology of viral respiratory infections in children undergoing heart surgery. *Prog Pediatr Cardiol*. 1º de março de 2019;52:22–5.
136. Hislop AA. Airway and blood vessel interaction during lung development. *J Anat*. 2002;201(4):325–34.
137. VanLeuven JT, Ridenhour BJ, Gonzalez AJ, Miller CR, Miura TA. Lung epithelial cells have virus-specific and shared gene expression responses to infection by diverse respiratory viruses. *PLoS One*. 1º de junho de 2017;12(6).
138. Olszewska-Pazdrak B, Casola A, Saito T, Alam R, Crowe SE, Mei F, et al. Cell-Specific Expression of RANTES, MCP-1, and MIP-1 by Lower Airway Epithelial Cells and Eosinophils Infected with Respiratory Syncytial Virus. Vol. 72, *JOURNAL OF VIROLOGY*. 1998.
139. Hayashi Y, Sada M, Shirai T, Okayama K, Kimura R, Kondo M, et al. Rhinovirus Infection and Virus-Induced Asthma. Vol. 14, *Viruses*. MDPI; 2022.
140. Papadopoulos NG, Sanderson G, Hunter J, Johnston SL. Rhinoviruses Replicate Effectively at Lower Airway Temperatures. Vol. 58, *J. Med. Virol*. 1999.
141. Cognasse F, Duchez AC, Audoux E, Ebermeyer T, Arthaud CA, Prier A, et al. Platelets as Key Factors in Inflammation: Focus on CD40L/CD40. Vol. 13, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A.; 2022.
142. Eggum R, Ueland T, Mollnes TE, Videm V, Fiane AE, Aukrust P, et al. Perfusion temperature, thyroid hormones and inflammation during pediatric cardiac surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. janeiro de 2010;10(1):76–80.
143. Lotan D, Zilberman D, Dagan O, Keller N, Ben-Abraham R, Weinbroum AA, et al. Chemokine Secretion Patterns in Relation to Clinical Course and Outcome in Children After Cardiopulmonary Bypass: Continuing the Search to Abrogate Systemic Inflammatory Response. 2001.

ANEXO A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO- HCFMUSP TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS SOBRE A PESQUISA

TÍTULO DA PESQUISA: Identificação de material genético de vírus respiratórios fora de estado infeccioso em portadores de defeitos septais cardíacos congênitos: relação com o perfil sérico de proteínas inflamatórias e comportamento hemodinâmico pulmonar pós-operatório

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

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

Seu filho (sua filha, seu bebê) vai ser submetido a uma operação cardíaca para corrigir um defeito (defeitos) de nascimento. A correção nesta idade é importante, para evitar complicações para o lado do coração e dos pulmões, e para permitir um crescimento mais adequado.

Estamos fazendo um trabalho, uma investigação, para ver se existe inflamação junto com a doença cardíaca e pulmonar de sua criança. Gostaríamos de saber se você concorda que sua criança participe deste estudo. Descobrir se existe alguma inflamação não suspeitada, pode ser importante não só para entendermos melhor o comportamento de sua criança durante e após a operação, mas também para o manejo de futuros pacientes. A participação no estudo não mudará em nada o tratamento de sua criança. Apenas coletaremos pequenas amostras de sangue e de secreção respiratória antes, durante e após a cirurgia.

A primeira amostra de sangue será coletada no dia antes da cirurgia, juntamente com os exames pré-operatórios normais. Assim, não será necessária uma “picada” a mais para coleta de sangue. A segunda e a terceira amostras serão coletadas logo após a operação e no dia seguinte. Mas estas amostras serão coletadas do cateter que a criança terá para a operação, então, não será necessário “picá-la”.

A primeira amostra de secreção respiratória será coletada na véspera da operação, com um cateter no nariz. A coleta é rápida e incomoda muito pouco. A segunda amostra de secreção respiratória será coletada no dia da operação, de dentro do “tubinho” que é colocado na traqueia da criança para ela respirar. Como sua criança já vai estar anestesiada, ela não terá desconforto nenhum.

O sangue será analisado procurando por algum indício de “inflamação”. A secreção da garganta e da traqueia será analisada procurando vírus que podem estar “dormentes”, sem sinais aparentes de gripe ou resfriado.

Os resultados serão todos analisados por médicos e pesquisadores, mantidos em sigilo, e usados apenas com finalidade científica, sem divulgação em qualquer tipo de mídia que não seja estritamente acadêmica e as amostras coletadas serão utilizadas apenas para esta pesquisa.

Se você tiver algum desconforto, poderá retirar a autorização para participação no estudo a qualquer momento.

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-
HCFMUSP TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Se você não concordar que sua criança participe do estudo, ela seguirá o curso normal do tratamento e seguimento pós-operatório, sem nenhum prejuízo ou restrição.

Tanto antes da operação como durante e depois, mesmo após a alta hospitalar, sua criança contará com a assistência de toda a equipe multiprofissional, para o tratamento de quaisquer problemas. Não antevemos nenhum tipo de problema relacionado com o estudo ou a coleta do material. Mas quaisquer problemas relacionados ao curso habitual do tratamento, serão vistos e orientados pela equipe.

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

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

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

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

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de dúvidas. O principal investigador é o Dr. Antonio Augusto B. Lopes, que pode ser encontrado no endereço Instituto do Coração (InCor), Av. Dr. Eneas de Carvalho Aguiar, 44, Telefone (11) 2661-5000, e-mail antonio.ablopes@hc.fm.usp.br. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-7585 ou 2661-1548 ou 2661-1549 – E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito do estudo "Identificação de material genético de vírus respiratórios fora de estado infeccioso em portadores de defeitos septais cardíacos congênitos: relação com o perfil sérico de proteínas inflamatórias e comportamento hemodinâmico pulmonar pós-operatório". Eu discuti as informações acima com o Pesquisador Responsável (Dr. Antonio Augusto B. Lopes) ou pessoa (s) por ele delegada (s) (enfermeiras Maria Francilene Silva Souza e Eloisa Sassá Carvalho, fisioterapeuta Kelly Cristina de Oliveira Abud) sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim os objetivos, os procedimentos, os potenciais desconfortos e riscos e as garantias. Concordo voluntariamente em participar deste estudo, assino este termo de consentimento e recebo uma via rubricada pelo pesquisador.

Assinatura do participante/representante legal Data / /

Assinatura do responsável pelo estudo Data / /

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-
HCFMUSP TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

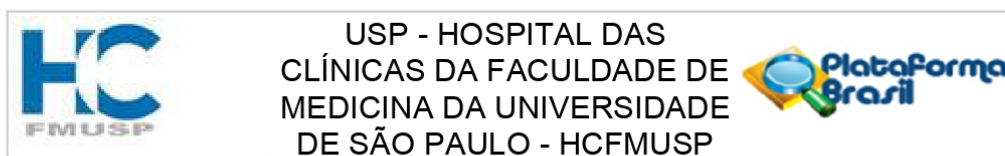
DADOS DE IDENTIFICAÇÃO (OU ETIQUETA INSTITUCIONAL DE IDENTIFICAÇÃO) DO
PARTICIPANTE DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

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

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável_____

Rubrica do pesquisador_____

ANEXO B – APROVAÇÃO CAPPesq



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Padrões hemodinâmicos pulmonares em pacientes pediátricos com defeitos septais cardíacos congênitos relação com mediadores inflamatórios e a presença não suspeitada de vírus respiratórios

Pesquisador: Antonio Augusto Barbosa Lopes

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 25940919.5.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.735.675

Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo prospectivo, de coorte para avaliar o papel dos vírus respiratórios no comportamento hemodinâmico e nos mediadores inflamatórios de crianças submetidas à cirurgia cardíaca para correção de defeitos de septo.

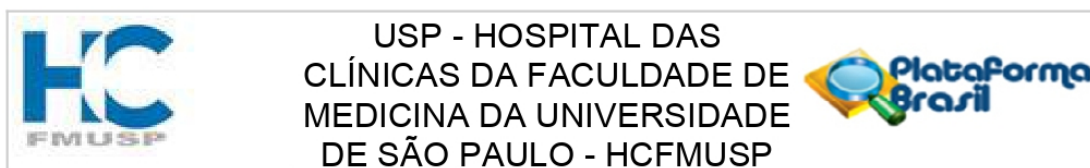
Serão incluídos pacientes até a idade de três anos, com comunicações cardíacas amplas (não restritivas). As características hemodinâmicas pré-operatórias serão definidas por meio de ecocardiografia com Doppler. A pesquisa de vírus será feita em material de nasofaringe e traqueia com uso de imunofluorescência e reação de polimerase em cadeia ("real time PCR"). Mediadores inflamatórios (36 proteínas) serão analisados no soro mediante ensaio imunoenzimático. O comportamento hemodinâmico pulmonar e sistêmico pós-operatório será estudado por medidas diretas através de cateteres, com 30 determinações nas primeiras 72 horas após a cirurgia. Além das implicações fisiopatológicas, o resultado podem ter impacto crítico na prevenção e manejo de complicações nesta população.

Ao todo serão incluídos 74 participantes.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Verificar, em pacientes pediátricos com "shunts" cardíacos não restritivos, a

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



Continuação do Parecer: 3.735.675

existência de possível diferença no comportamento hemodinâmico pulmonar, nas primeiras 72 horas do período pós-operatório, entre portadores e não portadores de material genético de vírus respiratórios em vias aéreas.

Objetivo Secundário: 2. Verificar, nos mesmos grupos considerados (portadores e não portadores de genomas para vírus respiratórios), possíveis diferenças no perfil de mediadores inflamatórios séricos, caracterizados fora de estado infeccioso.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos são mínimos e relacionados à coleta de material de orofaringe e de sangue por meio de cateter central já instalado devido à cirurgia cardíaca. Não há benefícios diretos para os participantes, mas o estudo pode contribuir no planejamento da abordagem perioperatória deste grupo de pacientes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo de coorte, prospectivo sobre tema de muito interesse no manejo das cardiopatias congênitas com "shunts". Não haverá intervenções que possam levar a um risco maior do que o mínimo para os participantes da pesquisa. O projeto está bem detalhado e é metodologicamente correto., com exames que utilizam a biologia molecular.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O pesquisador postou na Plataforma Brasil:

1. [Folha de rosto devidamente preenchida e assinada;
2. [Protocolo completo da pesquisa, com o detalhamento de todos os procedimentos que serão realizados;
3. [Anuência do responsável pelo laboratório que irá realizar os exames de identificação viral e do responsável pela dosagem de citocinas;
4. [Cronograma;
5. [Orçamento detalhado;
6. [TCLE claro e de fácil entendimento.

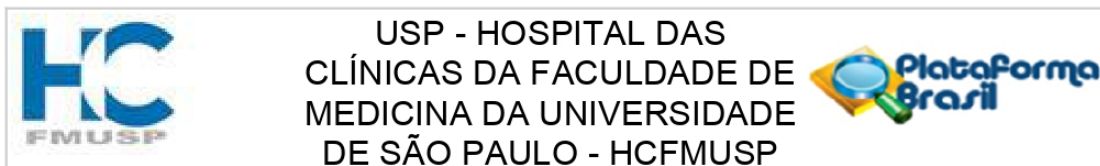
Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Estudo de coorte, prospectivo sobre tema de muito interesse no manejo das cardiopatias

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



Continuação do Parecer: 3.735.675

congênitas com “shunts”. Metodologicamente correto e bem detalhado, com riscos mínimos para o participante da pesquisa. Obedece os preceitos de ética em pesquisa e está de acordo com a resolução 466 de 2012. Não há impedimentos éticos para a aprovação do protocolo de pesquisa.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1384794.pdf	21/11/2019 11:52:30		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	18/11/2019 16:04:23	Antonio Augusto Barbosa Lopes	Aceito
Outros	carta_de_compromisso.pdf	18/11/2019 16:02:53	Antonio Augusto Barbosa Lopes	Aceito
Outros	cartas_anuencia.pdf	18/11/2019 16:02:38	Antonio Augusto Barbosa Lopes	Aceito
Outros	cronograma.doc	18/11/2019 16:02:04	Antonio Augusto Barbosa Lopes	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_pos_corrigido.docx	18/11/2019 15:59:59	Antonio Augusto Barbosa Lopes	Aceito
Outros	SGP_ASSINADO.pdf	18/11/2019 15:59:32	Antonio Augusto Barbosa Lopes	Aceito
Folha de Rosto	fr_pb_assinada.pdf	18/11/2019 14:21:07	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

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



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



Continuação do Parecer: 3.735.675

Não

SAO PAULO, 29 de Novembro de 2019

Assinado por:
Joel Faintuch
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

ANEXO C - Dados antropométricos e diagnósticos individuais – parte 1

N	Paciente	Gênero	Idade (meses)	Diagnóstico	Peso (kg)	Altura (cm)	Sd Down	Qp/Qs basal	SpO2
1	IRGS	F	5,67	DSAV PCA	5,84	63	S	3,20	87
2	NAP	F	11,40	DSAV PCA	5,27	59	S	1,60	88
3	VHA	M	23,13	DSAV	6,98	65	S	3,60	93
4	LBS	F	35,63	DSAV	9,90	89	S	1,80	93
5	EBES	F	10,87	DSAV PCA	6,64	63	S	3,40	93
6	YVHC	F	19,40	CIV	6,70	70,5	S	2,10	98
7	AAF	M	13,83	CIV IMI BANVD	10,00	77	N	3,80	99
8	PVS	M	35,83	CIV	11,00	84	N	2,84	99
9	LAM	F	4,27	CIV	3,54	59	N	1,90	95
10	SBF	F	18,20	CIV	8,40	88	N	3,30	97
11	LGOS	F	12,53	CIV	7,30	69	N	1,30	98
12	LCHOSS	M	16,23	DSAV	5,20	64	S	2,90	88
13	MHSAV	F	10,20	DSAV	5,80	60	S	2,00	94
14	SVC	F	8,70	DSAV CIA PCA	5,80	61	S	1,70	93
15	IRG	F	13,30	CIV	8,00	70	N	4,60	96
16	PHR	M	5,73	CIV	6,40	63	S	1,70	96
17	KAO	F	7,27	CIV IM IT	7,90	64	N	1,30	95
18	MMS	F	16,00	CIV	7,20	73	N	2,50	99
19	MEGSC	F	13,83	DSAV	5,90	67	S	3,50	94
20	KSO	F	18,23	DSAV CIA PCA	8,69	76	S	2,20	93
21	MJS	F	20,10	CIV PCA	7,13	74	N	1,80	96
22	VOS	F	7,60	CIV	4,93	64	N	2,10	97
23	GSB	F	7,13	DSAV PCA	6,00	63,5	S	2,90	92
24	NMMC	F	32,00	DSAV	10,38	82	S	1,70	97
25	LMS	F	4,70	CIV CIA	4,97	61	S	2,40	99
26	CILS	M	11,83	DSAV	6,22	69	S	1,30	92
27	JVMA	M	12,00	DSAV PCA	6,42	71	S	2,70	97
28	AAG	F	12,83	CIV CIA	6,20	67	S	1,59	99
29	GSS	F	9,20	CIV	7,10	69	S	1,40	98
30	CERA	M	10,40	CIV	6,14	62	N	4,45	99

BANVD, banda muscular anômala em ventrículo direito; CIA, comunicação interatrial; CIV, comunicação interventricular; DSAV, defeito septal atrioventricular; IAo, insuficiência aórtica; IM, insuficiência mitral; IT, insuficiência tricúspide; N: não; PCA, persistência do canal arterial; Qp/Qs, relação entre fluxos sanguíneos pulmonar e sistêmico; S: sim; SpO2, saturação periférica de oxigênio.

ANEXO C - Dados antropométricos e diagnósticos individuais – parte 2

N	Paciente	Gênero	Idade (meses)	Diagnóstico	Peso (kg)	Altura (cm)	Sd Down	Qp/Qs basal	SpO2
31	SRL	F	33,20	CIV CIA	9,37	79	S	2,50	96
32	SVS	F	7,60	CIV	5,05	63	N	3,20	98
33	TMOM	F	8,50	CIV	5,43	60,5	N	2,20	97
34	MCS	M	24,87	CIV IAo	9,00	80	N	1,20	99
35	LEQS	F	10,03	CIV	6,48	6,4	S	2,90	99
36	KPBS	M	6,97	CIV	4,00	60	N	3,40	98
37	RRG	F	5,30	DSAV	5,64	62	S	6,00	96
38	TDN	M	25,03	CIV	10,70	77	S	3,30	98
39	ASRA	F	33,00	CIV PCA	10,38	88	S	1,80	98
40	MMM	M	7,40	CIV	6,83	66	S	2,10	97
41	ASNA	F	3,20	DSAV	6,40	67	S	1,50	96
42	BFBS	M	5,70	CIV	5,08	60	N	2,50	96
43	LAP	F	5,20	DSAV	4,54	59	S	2,50	94
44	JXS	F	5,07	CIV CIA	3,60	55	S	2,90	96
45	ILLSC	F	4,27	DSAV CIA CIV	4,79	57,5	S	0,76	89
46	JDC	M	3,40	CIV CIA	3,80	54	S	2,00	96
47	NBP	M	6,03	CIV CIA	5,40	59	N	1,70	96
48	MJV	M	10,67	DSAV	7,10	68	S	1,90	92
49	ASFS	F	14,53	DSAV	5,84	66	S	3,70	90
50	VCA	F	14,17	CIV CIA	6,82	66	S	2,10	96
51	IRG	F	28,67	CIV	10,10	80	S	1,30	96
52	JAC	M	15,23	CIV	8,28	75	S	2,80	97
53	IFS	M	10,17	DSAV CIA CIV EVP	7,60	67	S	2,80	96
54	FVRP	F	18,70	JAP	7,00	47	S	0,60	89
55	PHAS	M	18,33	CIV	7,33	72	N	-	99
56	KO	M	8,47	DSAV PCA CIA	6,76	64	S	3,00	98
57	DPCS	M	12,67	DSAV CIA CIV PCA	6,62	68	S	3,50	89
58	MVR	F	8,43	CIV	9,10	75	N	3,60	96
59	LBN	F	8,40	DSAV	6,60	65,5	S	1,80	98
60	LML	M	12,60	CIV PCA	6,10	65	N	1,30	90

CIA, comunicação interatrial; CIV, comunicação interventricular; DSAV, defeito septal atrioventricular; IAo, insuficiência aórtica; IM, insuficiência mitral; IT, insuficiência tricúspide; JAP: janela aorto-pulmonar; N: não; PCA, persistência do canal arterial; Qp/Qs, relação entre fluxos sanguíneos pulmonar e sistêmico; S: sim; SpO2, saturação periférica de oxigênio.

Apêndice

Apêndice A – Artigo publicado

Abud et al.
European Journal of Medical Research (2023) 28:38
<https://doi.org/10.1186/s40001-023-01003-y>

European Journal
of Medical Research

RESEARCH

Open Access



Respiratory viruses and postoperative hemodynamics in patients with unrestrictive congenital cardiac communications: a prospective cohort study

Kelly C. O. Abud¹, Clarisse M. Machado², Lucy S. Vilas Boas², Nair Y. Maeda³, Eloisa S. Carvalho¹, Maria Francilene S. Souza¹, Paula V. Gaiolla¹, Claudia R. P. Castro¹, Juliana Pereira⁴, Marlene Rabinovitch⁵ and Antonio Augusto Lopes^{1*}

Abstract

Background Pulmonary vascular abnormalities pose a risk for severe life-threatening hemodynamic disturbances following surgical repair of congenital cardiac communications (CCC_s). In the distal lung, small airways and vessels share a common microenvironment, where biological crosstalks take place. Because respiratory cells infected by viruses express a number of molecules with potential impact on airway and vascular remodeling, we decided to test the hypothesis that CCC patients carrying viral genomes in the airways might be at a higher risk for pulmonary (and systemic) hemodynamic disturbances postoperatively.

Methods Sixty patients were prospectively enrolled (age 11 [7–16] months, median with interquartile range). Preoperative pulmonary/systemic mean arterial pressure ratio (PAP/SAP) was 0.78 (0.63–0.88). The presence or absence of genetic material for respiratory viruses in nasopharyngeal and tracheal aspirates was investigated preoperatively in the absence of respiratory symptoms using real-time polymerase chain reaction (kit for detection of 19 pathogens). Post-cardiopulmonary bypass (CPB) inflammatory reaction was analyzed by measuring serum levels of 36 inflammatory proteins (immunoblotting) 4 h after its termination. Postoperative hemodynamics was assessed using continuous recording of PAP and SAP with calculation of PAP/SAP ratio.

Results Viral genomes were detected in nasopharynx and the trachea in 64% and 38% of patients, respectively. Rhinovirus was the most prevalent agent. The presence of viral genomes in the trachea was associated with an upward shift of postoperative PAP curve ($p=0.011$) with a PAP/SAP of 0.44 (0.36–0.50) in patients who were positive versus 0.34 (0.30–0.45) in those who were negative ($p=0.008$). The presence or absence of viral genomes in nasopharynx did not help predict postoperative hemodynamics. Postoperative PAP/SAP was positively correlated with post-CPB levels of interleukin-1 receptor antagonist ($p=0.026$), macrophage migration inhibitory factor ($p=0.019$) and monocyte chemoattractant protein-1 ($p=0.031$), particularly in patients with virus-positive tracheal aspirates.

Conclusions Patients with CCC_s carrying respiratory viral genomes in lower airways are at a higher risk for postoperative pulmonary hypertension, thus deserving special attention and care. Preoperative exposure to respiratory viruses

*Correspondence:

Antonio Augusto Lopes
aablopes@usp.br

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2023. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

and post-CPB inflammatory reaction seem to play a combined role in determining the postoperative behavior of the pulmonary circulation.

Keywords Congenital heart disease, Respiratory viruses, Pulmonary hypertension, Pediatric cardiac surgery, Postoperative inflammatory response, Pediatric intensive care

Background

In patients with congenital cardiac communications, pulmonary vascular abnormalities pose a risk for immediate postoperative hemodynamic disturbances which are sometimes severe enough to be considered as life-threatening medical emergencies. Besides, persistent pulmonary hypertension late after operation may affect treatment success [1–3]. The severity of postoperative pulmonary vascular reactivity depends on the degree of preoperative pulmonary vascular remodeling which is generally related to patient age, type of cardiac anomaly and presence of extracardiac syndromes, such as Down syndrome (trisomy 21) [4]. Intraoperative factors play a role: metabolic and electrolyte abnormalities, imbalance between endogenous vasoconstrictors and vasodilators, and systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass (CPB) [5]. Postoperatively, hypoxia and acidosis have been considered as major triggers for pulmonary vasoconstriction [6, 7].

Large (unrestrictive) cardiac communications may be associated with pulmonary overcirculation with variable degrees of pulmonary congestion. Patients may present with congestive heart failure and failure to thrive and are predisposed to recurrent upper and lower respiratory tract infections. Viral infections have been extensively investigated in pediatric patients undergoing cardiac surgery. They were shown to impact on major outcomes, such as duration of postoperative mechanical ventilation, length of intensive care unit and hospital stays, and mortality [8–10]. However, the impact of preoperative exposure to respiratory viruses on the postoperative behavior of the pulmonary circulation has not been examined so far.

Respiratory viral infections may affect pulmonary microcirculation in at least two ways. First, they may cause local alveolar hypoxia, a major stimulus for pulmonary vasoconstriction. Second, infected airway epithelial cells cause cascade expression of proinflammatory cytokines, chemokines and growth factors, thus inducing local inflammation, extracellular matrix reorganization and cell proliferation [11–17]. Because small airways and arteries share the same microenvironment in the lungs [18], the biological events that take place as a result of viral infections may in theory, contribute to both airway and vascular remodeling.

In this study, we investigated the possible role of preoperative exposure to respiratory viruses and post-CPB inflammatory reaction in determining the behavior of the pulmonary circulation following elimination of left-to-right cardiac shunts. We examined that in a prospective pediatric cohort taking into consideration classical risk factors for postoperative pulmonary hypertension as well. We also looked for a possible relationship between the presence/absence of viral genomes in the airways prior to surgery and the level of pulmonary arterial pressure after discharge from the hospital.

Methods

Study design, setting and patients

This was a prospective cohort study comprising patients who were admitted to the Heart Institute (InCor), University of São Paulo School of Medicine, São Paulo Brazil, from November 2016 to September 2021, for surgical repair of congenital cardiac communications. Patients were consecutively enrolled based on the following criteria: age 1 month to 3 years; heart with biventricular physiology; presence of unrestrictive cardiac communications, i.e., with a diameter of the post-tricuspid communication greater than 50% of the aortic annulus diameter on transthoracic echocardiography; absence of pulmonary stenosis; clinical features suggestive of at least moderately elevated pulmonary arterial pressure: a loud second heart sound at pulmonic region, increased pulmonary/systemic blood flow ratio with absence of significant pressure gradients across the septal defects (echocardiography) and increased pulmonary vascular markings on chest radiographs; absence of extracardiac syndromes other than Down syndrome; and absence of any signs of ongoing or recent inflammatory or infectious diseases. The study was based essentially on patients who were eligible for surgical treatment with no need for cardiac catheterization. Patients with significant right-to-left shunting and persistently low peripheral oxygen saturation (< 85%), suggesting the presence of advanced pulmonary vasculopathy, were not included. An informed consent signed by family members was necessary for patient inclusion. The study protocol was approved by the Institutional Scientific and Ethics Committee, CAP-Pesq no. 3.735.675.

General diagnostic data

Data recorded at baseline included details of the clinical history and physical examination, such as signs and symptoms of congestive heart failure and failure to thrive, presence or absence of Down syndrome, occurrence of acute respiratory infections and eventual hospitalization prior to referral to the Heart Institute. The diagnosis of Down syndrome was confirmed by genetic testing. Chest radiographs, ECG and complete echocardiographic data were available for all patients. Transthoracic echocardiography was used to assess cardiovascular anatomy and blood flow parameters. The pulmonary/systemic blood flow ratio was calculated based on systolic flow parameters in the right and left ventricular outflow tracts. Pulmonary venous flow was estimated by measuring the velocity–time integral of blood flow in pulmonary veins. Patients with a pulmonary blood flow ratio greater than 2.50 and a velocity–time integral of pulmonary venous flow >24.0 cm were considered to have pulmonary over circulation which was generally associated with normal (>93%) peripheral oxygen saturation. Subjects with a pulmonary/systemic blood flow ratio <2.00, a velocity–time integral of blood flow in pulmonary veins <20.0 cm and peripheral oxygen saturation <93% were presumed to have heightened pulmonary vascular resistance, thus requiring special attention postoperatively. The tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE) was used to estimate right ventricular systolic function.

Perioperative management

Patients underwent open cardiac surgery for repair of cardiac lesions. Intraoperatively, they had pulmonary arterial pressure and systemic arterial pressure levels recorded before and after cardiopulmonary bypass (CPB). In our institution, patients who are at risk for postoperative pulmonary hemodynamic disturbances, i.e., those with unrestrictive cardiac communications and preoperative signs of pulmonary hypertension are routinely weaned from CPB on 20 ppm inhaled nitric oxide. A pulmonary arterial catheter was inserted by the surgeon to facilitate hemodynamic monitoring in the intensive care unit. Postoperative analgosedation was performed using fentanyl, midazolam and ketamine singly or in combination. Alternatively, morphine and dexmetomidine were used in combination in subjects with a very stable clinical course. Milrinone, epinephrine and norepinephrine were used as inotropic/vasoactive agents. Postoperatively, patients were kept on inhaled nitric oxide during the entire period of mechanical ventilation, except those in whom ventilation was prolonged for reasons other than pulmonary hypertension.

Primary outcome: postoperative hemodynamics

Invasive assessment of pulmonary and systemic arterial pressures was carried out for at least 2.5 days postoperatively (readings taken at 2-h intervals). Patients with unstable clinical course required longer periods of hemodynamic monitoring. To analyse differences between the study groups (i.e., patients with versus without viral genomes in the respiratory tract) pressure curves were constructed based on data obtained during the first 12 h of intensive care unit stay. In that period, patients were still deeply sedated, stable on mechanical ventilation receiving 20 ppm inhaled nitric oxide, and already free from major post-CPB hemodynamic instabilities. We also computed pulmonary/systemic mean arterial pressure ratio (PAP/SAP) and calculated the mean of first 4 values corresponding to the first 6 h of postoperative monitoring. In the study, this parameter was referred to as *early postoperative PAP/SAP*. It was also used to compare groups.

Other assessments during and after hospitalization

Postoperative clinical events related to pulmonary vascular tone instability and acute right/left ventricular dysfunction were recorded. These included: (1) typical pulmonary hypertensive crisis defined as a sustained elevation of pulmonary arterial pressure (mean pulmonary arterial pressure >75% of systemic arterial pressure level) with a decline in systemic pressure ($\geq 20\%$) and oxygen desaturation (<90%); (2) systemic hypotension with a pulmonary/systemic mean arterial pressure ratio in the range of 50–75% requiring frequent changes in the doses of vasoactive-inotropic drugs; (3) prolonged and/or recurrent hemodynamic and respiratory disturbances not promptly responsive to sedation and manual ventilation; and (4) all hemodynamic and respiratory critical instabilities requiring cardiorespiratory resuscitation. Transient elevations of pulmonary arterial pressure, even to supra-systemic levels, that were rapidly reversed by sedation and manual ventilation were not characterized as clinical events. Interpretations were made independently by 3 physicians (AAL, AMT, and on-duty intensivist).

After discharge from the hospital patients were followed up for 6 months, and then pulmonary hemodynamics was re-evaluated noninvasively by means of transthoracic echocardiography. An adequate tricuspid regurgitation jet Doppler signal was required to estimate systolic pulmonary arterial pressure. That was not possible in subjects with negligible tricuspid regurgitation. All factors and covariates that were recorded perioperatively were tested for a possible role in predicting post-hospitalization pulmonary arterial pressure.

Respiratory viruses

Nasopharyngeal and tracheal aspirates were obtained from all patients for detection and identification of respiratory viruses. Nasopharyngeal aspirates were obtained 2–3 days before surgery in the complete absence of respiratory symptoms. Tracheal aspirates were collected in the operating room just after orotracheal intubation. Nucleic acid extraction was performed using the EASYMAG system (bioMérieux, France) according to the manufacturer's instructions. Samples were subjected to real-time polymerase chain reaction (RT-PCR, one step) using the ABI 7500 system (Applied Biosystems, CA, USA). A Multiplex Kit (XGen, Pinhais, PR, Brazil) was used for detection of 19 respiratory pathogens including 18 viruses and *Mycoplasma pneumoniae*.

Pre- and postoperative inflammatory profile

Peripheral venous blood was collected 2–3 days before surgery and 4 h after CPB termination for analysis of serum levels of 36 inflammatory mediators. Proteins were analyzed by immunoblotting using a human cytokine array (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Samples were processed in duplicate and proteins were semiquantified by chemiluminescence. The results were obtained taking the average signal of each pair of duplicate spots and expressed as units of pixel intensity (upi). Preoperative and postoperative samples were always run in the same assay.

Data obtainment

Preoperative and postoperative clinical and hemodynamic assessments and laboratory analyses (respiratory viruses and inflammatory mediators) were carried out in a blinded fashion.

Statistical analysis

Unless otherwise specified, numerical data are presented as medians with interquartile ranges. Categorical data are presented as number of cases and percentages. Descriptive statistics was performing using the Mann–Whitney test and the Chi-square family of tests for comparisons between groups. The Wilcoxon test, Friedman's test and linear regression analysis were used to test for differences and associations within subjects. Inferential statistics was carried out using the General Linear model (one-way GLM analysis and two-way GLM analysis for repeated measures) to test for differences between groups regarding the behavior of hemodynamic parameters and curves. In this case, the distribution of the dependent variables was tested for closeness to the normal (Gaussian) distribution and when necessary, variables were analyzed after Box–Cox transformation. Predictors of hemodynamic abnormalities and clinical events were identified using

univariate, bivariate and multivariate Logistic regression analysis. Once a predictor was identified, a second variable was characterized as a confounder or enhancer if its inclusion in the statistical model resulted in a > 10% change in the original odds ratio. In all tests, 0.05 was set as the significant level. Statistical analysis was performed using the SPSS statistical software, version 28 (IBM, Armonk, NY, USA).

Results

Patient's baseline information

A flow diagram showing how patients were selected is shown in Fig. 1. Sixty patients were enrolled with age range of 3–35 months (11 [7–16] months, median with interquartile range). There were 39 patients with Down syndrome, 24 of whom had complete atrioventricular septal defect. All other patients had unrestrictive ventricular septal defect, either isolated (23 cases) or in combination with atrial septal defect, patent ductus arteriosus, mitral, tricuspid or aortic regurgitation, or aortopulmonary window (13 cases). For the entire cohort, pulmonary/systemic blood flow ratio was 2.20 (1.73–2.90) and peripheral oxygen saturation was 96% (93–98%). The presence of relatively restricted pulmonary blood flow considering the size of the cardiac communications suggested that pulmonary vascular resistance was elevated in some cases. Peripheral oxygen saturation was negatively correlated with pre-CPB PAP/SAP ($r = -0.34$, $p = 0.009$) further suggesting some degree of right-to-left shunting at baseline. On the other hand, 25% of patients had a pulmonary/systemic blood flow ratio greater than 2.90 which was generally associated with overt pulmonary congestion and failure to thrive. According to information obtained from parents, at least 20% of patients had respiratory viral infections prior to referral to the Heart Institute. Twenty-five patients (41.7%) had episodes of bronchiolitis and 22 (36.7%) had pneumonia requiring hospitalization.

Surgery and immediate postoperative course

All patients underwent complete surgical repair of cardiac anomalies. Pre-CPB mean pulmonary arterial pressure and pulmonary/systemic mean arterial pressure ratio were elevated. Both parameters decreased significantly after elimination of cardiac shunts. However, in the majority of patients they remained above optimal guidelines levels of 20 mmHg and 0.30, respectively [19]. Pre- and post-CPB mean pulmonary arterial pressure was 32 (28–38) mmHg and 21 (19–26) mmHg, respectively, $p < 0.001$. For pulmonary/systemic mean arterial pressure ratio values were 0.78 (0.63–0.88) and 0.40 (0.33–0.48), respectively, $p < 0.001$. Postoperatively, 14 patients had relevant clinical events as defined, which contributed to

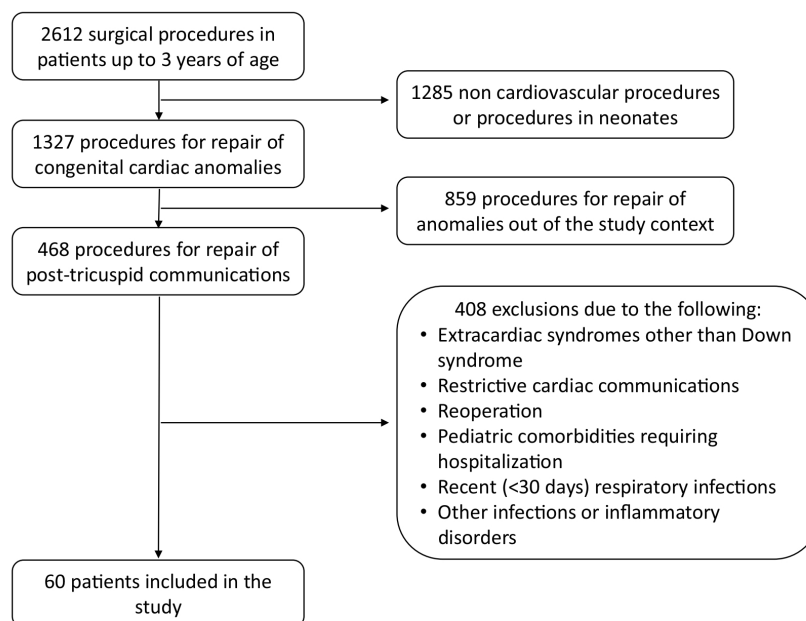


Fig. 1 Flow diagram showing patient inclusion and exclusion during the period of the study

prolonged mechanical ventilation ($p < 0.001$). One patient died of septicemia. Another patient died in the course of rapid-onset systemic hypotension followed by bradycardia unresponsive to vasopressin and other life-supporting interventions.

Detection of respiratory viruses

It was possible to characterize respiratory viral genomes in nasopharyngeal and tracheal aspirates in 58 and 55 patients, respectively. For the remaining patients, the amount of molecular material present in the aspirates was considered insufficient for analysis. The percentage of patients carrying genetic material for each of the viruses investigated in the study is shown in Fig. 2. Human rhinovirus was found to be the most prevalent agent in nasopharynx and trachea. Thirty-seven patients (64%) were positive for respiratory viral genomes in nasopharynx, of whom 20, 10, 5 and 2 were carriers for 1, 2,

3 and 4 viruses, respectively. Twenty-one patients (38%) were positive for viral genomes in the trachea, of whom 14, 5 and 2 were carriers for 1, 2 and 3 viruses, respectively. In 1 out of 9 patients who had tracheal aspirates collected and analyzed during the pandemic, SARS-CoV-2-specific RT-PCR test was positive. This patient also tested positive for human parainfluenza virus 3, human bocavirus and *Mycoplasma pneumoniae*.

Factors influencing postoperative hemodynamics

The behavior of pulmonary and systemic arterial pressure and peripheral oxygen saturation during the first 12 h of postoperative care is shown in Fig. 3. When patients were analyzed according to the presence or absence of viral genomes in the nasopharynx, similar curves were obtained for all parameters. However, patients who were positive for viral genomes in tracheal aspirates had significantly higher pulmonary arterial pressure

(See figure on next page.)

Fig. 2 Respiratory viral genomes detected in nasopharyngeal and tracheal aspirates (total of 58 and 55 cases analyzed, respectively). FluA and FluB: influenza A and influenza B, respectively; H1N1: influenza A H1N1; CoV43, CoV63, CoV229 and HKU: coronavirus OC43, NL63, 229E and HKU1, respectively; HPIV1, HPIV2, HPIV3 and HPIV4: human parainfluenza virus 1, 2, 3 and 4, respectively; HMPVA/B: human metapneumovirus A/B; HRSVA/B: human respiratory syncytial virus A/B; HPeV: human parechovirus; EV: enterovirus; HAdV: human adenovirus; HBoV: human bocavirus; HRV: human rhinovirus; Mpneu: *Mycoplasma pneumoniae*

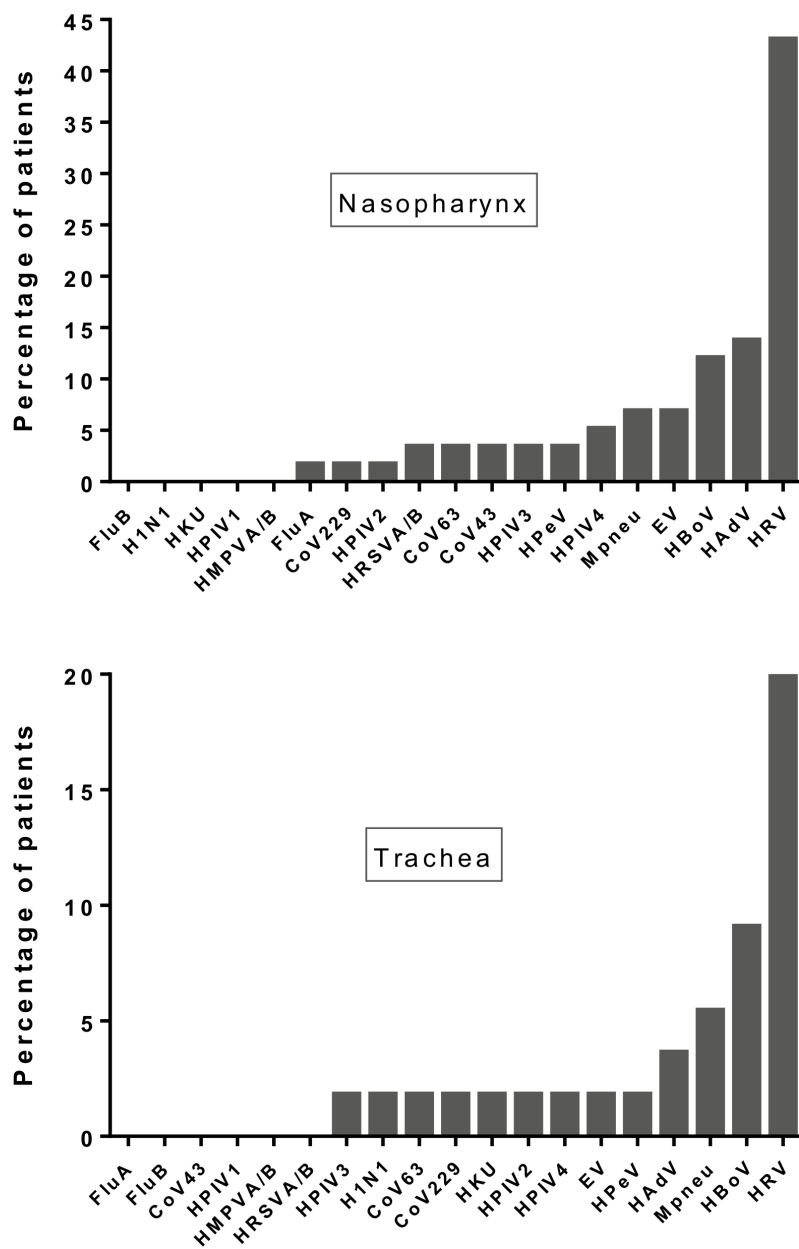


Fig. 2 (See legend on previous page.)

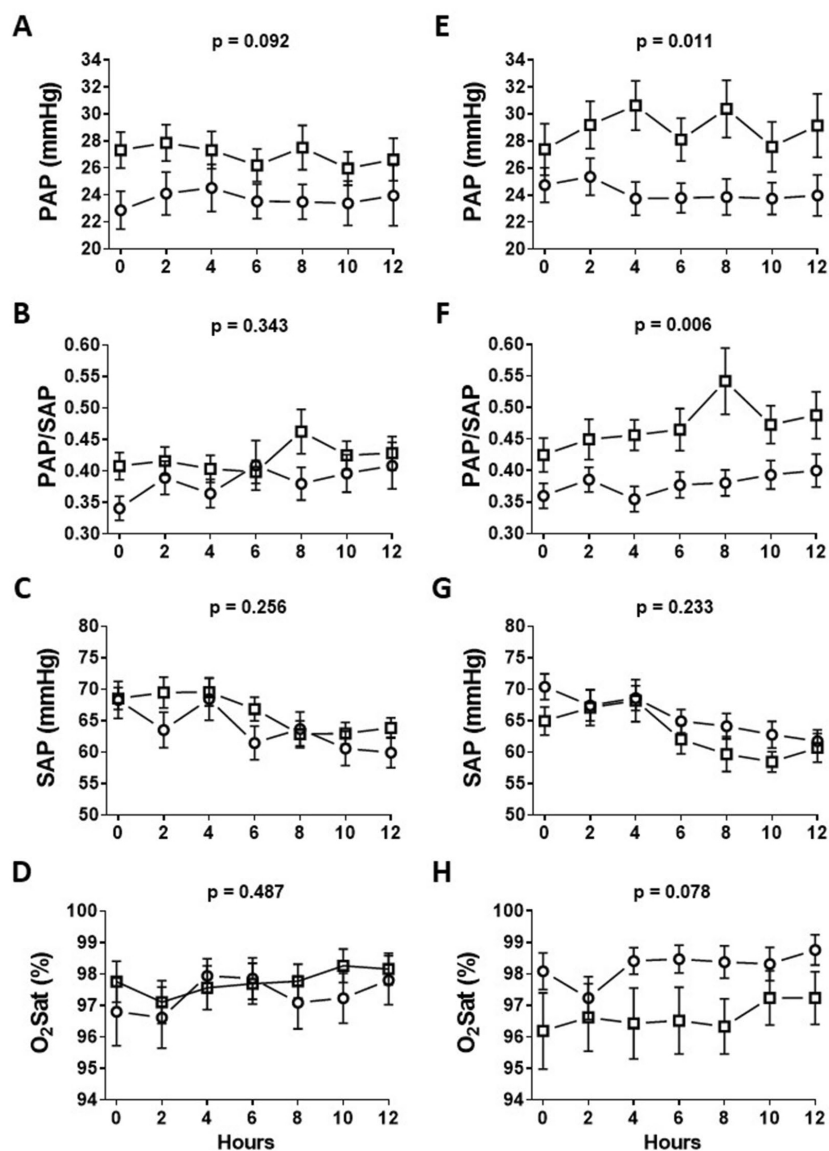


Fig. 3 Pressure and oxygen saturation curves during the first 12 h of postoperative care according to the presence (squares) or absence (circles) of respiratory viral genomes in nasopharyngeal (A–D) and tracheal (E–H) aspirates. Results are presented as means with SE. *P* values correspond to differences between groups analyzed using the general linear model for repeated measures after Box–Cox transformation of the dependent variables. O₂ Sat: peripheral oxygen saturation; PAP and SAP: pulmonary arterial pressure and mean systemic arterial pressure, respectively; PAP/SAP: pulmonary/systemic arterial pressure ratio

levels compared to those who were negative. Furthermore, there was a trend toward lower oxygen saturation levels in the former group. Patients with versus without viral genomes in the trachea were subsequently compared in terms of demographic and diagnostic features as well as pre-CPB hemodynamics. No significant differences were observed (Table 1). There were no differences in baseline levels of inflammatory proteins between the groups, except for chemokine SDF-1 whose levels were lower in the former one (respectively, 3569 [2528–4972] and 4998 [3955–6496] units of pixel intensity, $p=0.037$).

The analysis of factors with possible influence on postoperative hemodynamics in addition to the presence of viral genomes in the trachea was carried out using early postoperative PAP/SAP as dependent variable; values >0.40 were shown to be associated with relevant postoperative clinical events [20]. In the present study, early postoperative PAP/SAP in patients with and without respiratory viral genomes in tracheal aspirates was 0.44 (0.36–0.50) and 0.34 (0.30–0.45), respectively, $p=0.008$. Using univariate analysis, we identified 8 factors potentially correlatable with early postoperative PAP/SAP, with p values <0.10 (Table 2). However, only baseline peripheral oxygen saturation, identified as a protective factor (odds ratio 0.40 for quartiles, 95% CI 0.23–0.72, $p=0.002$) and the presence of viral

genomes in the trachea (risk-factor, odds ratio 4.42, 95% CI 1.17–16.78, $p=0.029$) remained in the multivariate model. The final logistic regression equation was: $\text{Ln}(p/1-p) = 1.290 + 1.487 \cdot 0$ or 1 for absence or presence of viruses $-0.909 \cdot$ baseline oxygen saturation, where p is the probability of having an early postoperative PAP/SAP >0.40 . Because rhinovirus was the most prevalent agent, we analyzed early postoperative PAP/SAP comparatively in patients carrying only rhinovirus ($n=8$) and those who were negative for all investigated viruses ($n=34$). The respective values were 0.45 (0.33–0.59) and 0.34 (0.30–0.45) ($p=0.041$ after adjustment for baseline oxygen saturation). We also analyzed the postoperative behavior of the pulmonary circulation specifically in patients who entered the study prior to SARS-CoV-2 pandemic. Early postoperative PAP/SAP in patients with ($n=17$) and without ($n=29$) viral genomes in tracheal aspirates was 0.42 (0.36–0.53) and 0.34 (0.29–0.43), respectively, $p=0.007$. For patients who entered the study during the pandemic, values were 0.44 (0.36–0.46) ($n=4$) and 0.35 (0.30–0.57) ($n=5$), respectively.

Postoperative inflammatory reaction

Changes in hematological parameters from baseline are shown in Table 3. Postoperatively, there was a decrease in lymphocyte and platelet count while monocytes,

Table 1 Demographic and diagnostic data in patient groups

	Viral genomes in tracheal aspirates		
	Absent ($n=34$)	Present ($n=21$)	p value
Age, months	10 (7–17)	11 (8–15)	0.621 [†]
Gender, M:F	14:20	7:14	0.767 [‡]
Weight, kg	6.6 (5.4–8.1)	6.4 (6.0–7.5)	0.993 [†]
Height, cm	65.0 (61.8–72.5)	66.0 (62.0–70.5)	0.835 [†]
Down syndrome, n (%)	26 (76.5)	10 (47.6)	0.058 [‡]
Peripheral oxygen saturation, %	96 (93–98)	96 (92–98)	0.875 [†]
Transthoracic echocardiography			
Main cardiac anomaly, ventricular septal defect: atrioventricular septal defect	19:15	14:7	0.610 [‡]
Pulmonary/systemic blood flow ratio	2.25 (1.70–3.05)	2.20 (1.55–2.90)	0.597 [†]
Velocity–time integral of blood flow in pulmonary veins, cm^3	22.4 (18.8–25.3)	21.3 (20.0–25.0)	0.815 [†]
TAPSE, mm^5	15.0 (13.0–17.0)	13.0 (12.0–16.0)	0.155 [†]
CPB time, min	132 (90–151)	125 (95–152)	0.979 [†]
Pre-CPB mean pulmonary artery pressure, mmHg	32 (28–36)	37 (30–40)	0.070 [†]
Pre-CPB pulmonary/systemic mean arterial pressure ratio	0.79 (0.62–0.86)	0.83 (0.68–0.94)	0.212 [†]

Numeric variables are presented as median with interquartile range

CPB cardiopulmonary bypass

[†] Mann–Whitney test

[‡] Chi-square test

⁵ Tricuspid annular plane systolic excursion. Normally, values increase with increasing age in the pediatric population. A TAPSE of ≥ 16.5 is considered normal at the age of 1 year, as are values ≥ 16.5 by the age of 2 years [24]

^a Values <20 cm are generally associated with elevated pulmonary vascular resistance in pediatric patients with unrestrictive cardiac shunts [22, 23]

Table 2 Variables possibly associated with postoperative elevation of pulmonary arterial pressure

	Coefficient	Odds ratio ^a	95% CI		p value
			Lower limit	Upper limit	
Age	0.244	1.28	0.81	2.02	0.296
Gender	-0.454	0.64	0.22	1.86	0.408
Weight	-0.024	0.98	0.62	1.54	0.920
Height	0.159	1.17	0.75	1.85	0.491
Down syndrome	0.968	2.63	0.85	8.20	0.095
Main cardiac anomaly, AVSD compared to VSD	1.33	3.79	1.28	11.25	0.017
Peripheral oxygen saturation	-0.701	0.50	0.30	0.81	0.005
Pulmonary/systemic blood flow ratio	-0.112	0.89	0.56	1.42	0.637
Pulmonary venous flow (VTI)	0.355	1.43	0.90	2.27	0.135
TAPSE	-0.454	0.64	0.39	1.05	0.076
CPB time	0.931	2.54	1.45	4.44	0.001
Pre-CPB mean pulmonary artery pressure	0.504	1.66	1.01	2.73	0.048
Pre-CPB pulmonary/systemic mean arterial pressure ratio	0.498	1.65	1.01	2.69	0.047
Presence of respiratory viral genomes in the trachea	1.223	3.40	1.09	10.59	0.035

Results were obtained using logistic regression analysis. All numeric variables were analyzed as quartiles

AVSD atrioventricular septal defect, CPB cardiopulmonary bypass, TAPSE tricuspid annular plane systolic excursion, VSD ventricular septal defect, VTI velocity-time integral of blood flow in pulmonary veins

^a Associated with early postoperative pulmonary/systemic mean arterial pressure ratio > 0.40 (mean of first 4 values, readings at 2-h intervals)

Table 3 Preoperative and postoperative hematological data

	Before surgery	Post-CPB		p value*
		4 h	24 h	
White blood cell count, K/ μ L	10.54 (7.69–12.21)	14.23 (11.45–17.02) [†]	13.93 (11.59–18.33) [†]	< 0.001
Lymphocytes, K/ μ L	4.78 (3.58–7.76)	1.69 (1.00–2.44) [†]	1.77 (1.17–2.19) [†]	< 0.001
Monocytes, K/ μ L	0.68 (0.51–1.06)	1.05 (0.72–1.43) [†]	1.44 (0.79–1.88) [†]	< 0.001
Neutrophils, K/ μ L	3.28 (2.06–4.90)	10.82 (8.68–13.69) [†]	10.70 (8.08–13.66) [†]	< 0.001
Neutrophil to lymphocyte ratio	0.57 (0.38–0.97)	6.88 (4.03–10.66) [†]	6.33 (4.20–9.42) [†]	< 0.001
Platelets, K/ μ L	328 (265–380)	140 (114–170) [†]	138 (110–163) [†]	< 0.001
Mean platelet volume, fL	9.40 (8.80–10.00)	9.30 (8.60–9.93)	10.00 (9.20–10.50) [†]	< 0.001
C-reactive protein, mg/L	1.88 (1.06–3.30)	2.77 (1.80–4.30)	69.01 (54.40–79.79) [†]	< 0.001

Results are presented as median with interquartile range

CPB cardiopulmonary bypass

*Friedman test

[†] and [‡], respectively, $p < 0.001$ and $p < 0.01$ versus baseline

neutrophils and the neutrophil to lymphocyte ratio increased significantly. The increase in platelet volume was compatible with increased platelet turnover. C-reactive protein was importantly increased on postoperative day 1. Post-CPB systemic inflammatory response was characterized by changes in serum levels of several inflammatory proteins, as shown in Table 4. For example, the decrease in serum RANTES was directly related to the amount of vasoactive and inotropic drugs required for hemodynamic stabilization which was computed using the vasoactive-inotropic score [21] ($r = 0.50$,

$p < 0.001$). Besides, there was a marked increase in circulating IL-1RA with negligible changes in IL-1 (spare receptor phenomenon). The relationship between post-CPB inflammatory response and development of postoperative pulmonary hypertension was investigated. Of 36 inflammatory proteins that were analyzed in serum 4 h post CPB, 10 were found to have a possible influence on early postoperative PAP/SAP with p values < 0.10 (Table 5). To investigate if respiratory viruses and post-CPB inflammatory reaction could have combined effects on postoperative hemodynamics we adjusted bivariate

Table 4 Changes from baseline in serum levels of inflammatory proteins following CPB

	Before surgery	4 h post-CPB	Valor de p*
C5/CSa (upi)	3193 (1199–6766)	1796 (1073–3578)	0.021
CD40L (upi)	6148 (3130–10,662)	2474 (1263–4975)	<0.001
G-CSF (upi)	448 (265–814)	1222 (685–1990)	<0.001
GM-CSF (upi)	327 (161–440)	279 (171–397)	0.753
GRO α (upi)	1947 (1319–3250)	1301 (757–2135)	0.001
I-309 (upi)	505 (254–1158)	623 (300–935)	0.995
ICAM-1 (upi)	41,303 (31,628–52,121)	39,366 (28,739–48,650)	0.398
IFN- γ (upi)	294 (180–407)	285 (187–432)	0.302
IL-1 α (upi)	365 (202–617)	366 (227–727)	0.624
IL-1 β (upi)	170 (124–470)	224 (122–436)	0.807
IL-1RA (upi)	1626 (730–2450)	15,023 (11,424–20,347)	<0.001
IL-2 (upi)	192 (120–490)	222 (147–379)	0.666
IL-4 (upi)	337 (166–488)	295 (206–461)	0.369
IL-5 (upi)	126 (79–240)	136 (75–214)	0.630
IL-6 (upi)	301 (180–621)	1198 (563–2128)	<0.001
IL-8 (upi)	267 (148–447)	482 (231–828)	<0.001
IL-10 (upi)	250 (141–391)	284 (205–461)	0.050
IL-12p70 (upi)	261 (151–421)	239 (132–413)	0.554
IL-13 (upi)	619 (318–1208)	671 (356–1157)	0.130
IL-16 (upi)	592 (290–1085)	1859 (1171–2840)	<0.001
IL-17 (upi)	293 (177–477)	273 (175–521)	0.225
IL-17E (upi)	400 (208–639)	350 (239–602)	0.781
IL-27 (upi)	283 (157–415)	251 (158–406)	0.817
IL-32 α (upi)	583 (281–977)	442 (284–940)	0.133
IP-10 (upi)	787 (425–1375)	1519 (787–3826)	<0.001
I-TAC (upi)	519 (279–913)	504 (319–807)	0.959
MCP-1 (upi)	439 (232–824)	676 (378–1028)	0.001
MIF (upi)	5529 (4652–7003)	7609 (6733–9935)	<0.001
MIP-1 α/β (upi)	524 (269–878)	491 (281–921)	0.635
Serpin E1 (upi)	44,650 (34,461–56,664)	36,631 (31,107–47,622)	0.006
RANTES (upi)	61,983 (47,488–71,255)	50,689 (39,347–65,383)	0.004
SDF-1 (upi)	4348 (3333–6127)	4321 (2911–6630)	0.933
TNF- α (upi)	306 (149–585)	304 (203–584)	0.243
sTREM-1 (upi)	280 (177–533)	285 (196–583)	0.462
IL-18 (upi)	1058 (544–1576)	1055 (558–1799)	0.103
IL-21 (upi)	411 (266–732)	414 (282–684)	0.440

Results are presented as median with interquartile range

CPB cardiopulmonary bypass

*Wilcoxon test

models for each of the proteins listed in the table using the presence/absence of viral genomes in tracheal aspirates as the second variable. For 3 cytokines, the inclusion of the second variable resulted in a >10% increase in the odds ratio obtained at univariate analysis, thus suggesting a role for viruses and cytokines as predisposing and triggering factors, respectively (Table 5).

Early postoperative hemodynamics and clinical events

Postoperative clinical events were closely related to early postoperative hemodynamics, as shown in Table 6. There was a role for hemodynamic parameters recorded in the operating room as well. Multivariate analysis showed that early postoperative PAP/SAP was positively correlated with the occurrence of postoperative events (odds

Table 5 Inflammatory markers and postoperative elevation of pulmonary arterial pressure: univariate and bivariate analyses

	Coefficient	Odds ratio ^a	95% CI		p value
			Lower limit	Upper limit	
IL-1RA	0.583	1.79	1.02	3.14	0.041
IL-6	0.708	2.03	1.10	3.76	0.024
IL-10	0.599	1.82	1.00	3.31	0.049
IL-17E	0.558	1.75	0.98	3.13	0.061
MCP-1	0.468	1.60	0.92	2.78	0.096
MIF	0.583	1.79	1.02	3.14	0.041
MIP-1 α/β	0.558	1.75	0.98	3.13	0.061
TNF- α	0.522	1.69	0.94	3.02	0.079
IL-18	0.599	1.82	1.00	3.31	0.049
IL-21	0.818	2.27	1.23	4.19	0.009
IL-1RA	0.711	2.04 (14% increase)	1.09	3.81	0.026
Presence of respiratory viral genomes in the trachea	1.475	4.37	1.08	17.63	0.038
MIF	0.849	2.34 (31% increase)	1.15	4.74	0.019
Presence of respiratory viral genomes in the trachea	1.432	4.19	1.03	16.96	0.045
MCP-1	0.780	2.18 (36% increase)	1.07	4.43	0.031
Presence of respiratory viral genomes in the trachea	1.843	6.32	1.30	30.71	0.022

Cytokine concentrations were measured 4 h after cardiopulmonary bypass termination and analyzed as quartiles

Shown in bivariate analysis are the proteins with a > 10% increase in odds ratio relative to univariate analysis

The first step consisted of selecting cytokines with a p value < 0.10

^a Associated with early postoperative pulmonary/systemic mean arterial pressure ratio > 0.40 (mean of first 4 values, readings at 2-h intervals). Results were obtained using logistic regression analysis

Table 6 Variables with possible association with postoperative clinical events

	Coefficient	Odds ratio	95% CI		p value
			Lower limit	Upper limit	
Age	0.129	1.14	0.67	1.94	0.635
Gender	-0.948	0.39	0.10	1.58	0.186
Weight	0.209	1.23	0.72	2.12	0.452
Height	-0.073	0.93	0.55	1.58	0.788
Down syndrome	-0.041	0.96	0.28	3.35	0.949
Main cardiac anomaly, AVSD vs. VSD	-0.236	0.79	0.23	2.73	0.709
Peripheral oxygen saturation	-0.207	0.81	0.49	1.36	0.433
Pulmonary/systemic blood flow ratio	-0.077	0.93	0.54	1.59	0.782
Pulmonary venous flow (VTI)	-0.017	0.98	0.58	1.67	0.950
TAPSE	-0.531	0.59	0.32	1.07	0.084
CPB time	-0.075	0.93	0.54	1.59	0.785
Pre-CPB mean pulmonary artery pressure	0.424	1.53	0.86	2.72	0.149
Pre-CPB pulmonary/systemic mean arterial pressure ratio	0.059	1.06	0.62	1.83	0.832
Post-CPB mean pulmonary artery pressure	0.789	2.20	1.18	4.11	0.013
Post-CPB mean systemic artery pressure	-0.773	0.46	0.24	0.89	0.021
Post-CPB pulmonary/systemic mean arterial pressure ratio	0.965	2.62	1.32	5.20	0.006
Early postoperative PAP/SAP > 0.40	2.025	7.58	1.84	31.28	0.005
Presence of respiratory viral genomes in the trachea	1.055	2.87	0.83	9.99	0.097

All numeric variables were analyzed as quartiles

AVSD atrioventricular septal defect, CPB cardiopulmonary bypass, PAP/SAP pulmonary/systemic mean arterial pressure ratio, TAPSE tricuspid annular plane systolic excursion, VSD ventricular septal defect, VTI velocity-time integral

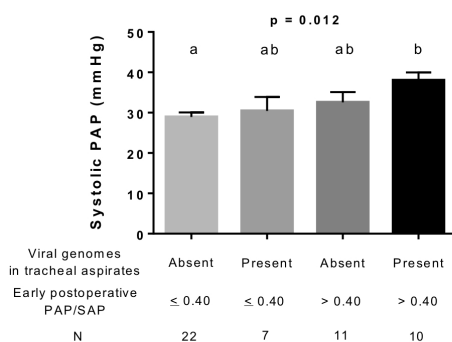


Fig. 4 Interactive influence of respiratory viral genomes and early postoperative hemodynamics (pulmonary/systemic mean arterial pressure ratio, PAP/SAP) on post-hospitalization pulmonary arterial pressure. Shown are the results of patients for whom it was possible to analyze viral genetic material in tracheal aspirates and systolic pulmonary arterial pressure on 6-month postoperative echocardiogram. Data were analyzed using the general linear model and results are presented as means with SE. Groups not sharing the same letter were different at post hoc multiple comparisons

ratio 8.40 for quartiles, 95% CI 1.79–39.47, $p=0.007$), while higher levels of post-CPB mean systemic arterial pressure were protective (odds ratio 0.42 for quartiles, 95% CI 0.20–0.89, $p=0.023$). Importantly, there was a direct relationship between the occurrence of postoperative events and the duration of mechanical ventilation ($p<0.001$).

Hemodynamics after discharge from the hospital

Fifty-eight individuals were discharged from the hospital and were seen in outpatient medical settings 6 months after operation. In 55 subjects, there was an adequate tricuspid regurgitation jet Doppler signal on 6-month postoperative echocardiogram allowing for the estimation of systolic pulmonary arterial pressure. While analyzing factors and covariates that were recorded perioperatively, we observed that the presence of viral genomes in tracheal aspirates and early postoperative PAP/SAP interactively influenced post-hospitalization levels of pulmonary artery pressure (Fig. 4).

Discussion

Viruses are the leading cause of respiratory disorders and lung cell injury. This is particularly so in the pediatric population [25–27]. In the setting of cardiac surgery, respiratory abnormalities initiated preoperatively in the course of viral diseases may be further exacerbated by the systemic inflammatory reaction elicited by CPB [28] placing patients at greater risk for poor postoperative outcomes [8–10, 29, 30]. To the best of our knowledge,

the present study represents the first initiative to investigate the relationship between respiratory viruses and the behavior of the pulmonary circulation after surgery for congenital cardiac shunts. Our findings suggest that respiratory viruses might have somehow contributed to the development of pulmonary vascular changes preoperatively, thus increasing the predisposition to postoperative pulmonary hypertension. Post-CPB inflammatory reaction seemed to play a role as a triggering factor. Altered postoperative hemodynamics accounted for clinical events in the intensive care unit with longer times of mechanical ventilation. Finally, respiratory viruses and early postoperative hemodynamics played an interactive role in determining the level of pulmonary artery pressure after discharge from the hospital. Obtainment of tracheal aspirates was crucial for demonstrating the aforementioned associations. The presence of genetic material for respiratory viruses in nasopharynx was by no means predictive of any hemodynamic or clinical events.

Some of our patients had respiratory viral infections in their clinical history, others did not. The question might be raised if respiratory viruses remain active in asymptomatic individuals. In addition, because different pathogens were detected in the study population, it would be worth discovering which ones are capable of infecting the distal lung as to cause relevant changes in small airways and eventually vessels. Although these are difficult points to address in the context of the present study, preliminary thoughts can be formulated with regard to rhinovirus, the most prevalent agent in our cohort. Rhinoviruses are known for their chronic behavior in many instances and their ability to alter the biology of peripheral lung cells. Although infections are usually mild and limited to the upper respiratory tract, there is growing evidence that they can induce lower respiratory tract pathology with severe pulmonary and extrapulmonary complications in adults and children [31, 32]. In the pediatric population, rhinovirus infections have been linked clinically with serious lower airway illnesses including asthma exacerbation, cystic fibrosis, bronchitis, bronchiolitis, pneumonia and croup [33–36]. Although most rhinovirus serotypes replicate optimally at 33 °C, some strains can actually replicate well at 37 °C and infect lower airways in humans [37]. Of special interest in terms of pulmonary vascular biology, rhinovirus-infected lung vascular endothelial cells generate several inflammatory and cytopathic responses [38]. Rhinovirus-infected bronchial epithelial cells express inflammatory mediators including IP-10 which was shown to be involved in vascular smooth muscle cell migration and proliferation [11, 15, 39]. Furthermore, type 2 immune response which is induced during rhinovirus infections [40, 41] was shown to play a central role in pulmonary vascular remodeling [13, 42]. In the

present study, we were able to demonstrate the hypertensive behavior of the pulmonary circulation for the specific subgroup of rhinovirus carriers. Although the study was not sufficiently powered to demonstrate the individual role of other viruses, we speculate that some might be involved. For example, human bocavirus, the second most prevalent agent in our cohort was shown to persist in the infected host, induce the expression of cytokines and growth factors and elicit Th1 and Th2 immune responses [43, 44].

In our patients, the inflammatory response to surgery under CPB was characterized by an increase in the number of circulating monocytes, a marked increase in neutrophil to lymphocyte ratio, a decrease in platelet count and changes in serum levels of several cytokines and related proteins. The inflammatory reaction seemed to explain the hypertensive postoperative behavior of the pulmonary circulation at least in part. While it is known that multiple mechanisms are involved in pulmonary vasoconstriction and hypertension in acute conditions [45], it is worth commenting on the role of some inflammatory mediators. IL-1, IL-6 and TNF- α protein levels were shown to be closely associated with PI3K/Akt signaling pathway activation in early stages of monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats [46]. The chemokine-like cytokine MIF, a central element in innate and adaptive immunity was shown to enhance pulmonary vasoconstriction induced by hypoxia and potentiate constriction pre-evoked by agonists in isolated pulmonary artery rings [47]. Although the chemokine MCP-1 has been shown to play an important pathophysiological role in pulmonary vascular remodeling [48–50], its involvement in acute pulmonary vasoconstriction is probably indirect. MCP-1 is expressed during endothelial cell activation, attracts inflammatory cells and enhances the release of several other mediators of inflammation [51]. Interestingly, MCP-1 was shown to play a role in the recovery of monocyte function after pediatric cardiac surgery along with IL-1RA and IL-10 [52]. In the present study, the increase in IL-1 activity following CPB was inferred from the ~tenfold increase in serum level of IL-1RA. Because of the spare receptor phenomenon, large quantities of IL-1RA are required to functionally inhibit the biological effects of negligible amounts of IL-1 [53]. Our results showed that preoperative exposure to respiratory viruses and postoperative overexpression of IL-1/IL-1RA, MIF and MCP-1 acted as combined risk factors for postoperative pulmonary hypertension. Other cytokines (e.g., IL-6 and IL-21) probably played a role as judged by the data presented in Table 5. Furthermore, because the level of several inflammatory proteins changed significantly following surgery, as shown in Table 4, the spectrum of mediators with relevant effects

on the pulmonary and systemic circulation and the heart may be even wider.

We also investigated factors that have been classically linked to postoperative pulmonary hypertension in this population. While patient's age (maximum of 35 months in the study) did not seem to influence postoperative pulmonary hemodynamics, the presence of Down syndrome may have played an indirect role via the complexity of cardiac anomaly (atrioventricular septal defect in 61.5% of cases) with longer surgical times (CPB duration) and presumably, more pronounced inflammatory response. Peripheral oxygen saturation was found to be an important predictor of postoperative hemodynamics. This was probably due to the fact that oxygen saturation reflected the status of the pulmonary circulation at baseline. In fact, bedside oxygen saturation was negatively correlated with pre-CPB pulmonary artery pressure measured directly in the operating room. Although oxygen saturation did not correlate with the presence/absence of viral genomes in the airways, we cannot totally exclude chronic airway abnormalities as a cause for lower-than-normal oxygen saturation levels in some individuals. Upper airway obstructions may have contributed to imbalances between ventilation and perfusion especially in patients with Down syndrome. Bidirectional shunting within the cardiac chambers as a result of heightened pulmonary vascular resistance may also have contributed to systemic oxygen desaturation in some cases.

Conclusion

We showed an association between the presence of respiratory viral genomes in the trachea and the hypertensive behavior of the pulmonary circulation in pediatric patients undergoing surgery for congenital cardiac septal defects, thus suggesting a pathophysiological role for respiratory viruses on the development of pulmonary vascular abnormalities. Because we did not investigate if patients were still carriers for viruses after operation (study limitation), we can only speculate that new biological events initiated at the time of surgery involving inflammation and persistence of viral activity might partly explain the hemodynamic alterations that were still present in some individuals after discharge from the hospital. Further research is needed to clarify such relationships.

Abbreviations

CPB	Cardiopulmonary bypass
ECG	Electrocardiogram
TAPSE	Tricuspid annular plane systolic excursion
PAP/SAP	Pulmonary/systemic mean arterial pressure ratio
RT-PCR	Real-time polymerase chain reaction
upi	Units of pixel intensity
C5/C5a	Complement component 5/5a

CD40L	CD40 ligand
G-CSF	Granulocyte colony-stimulating factor
GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
GRO α	Growth-regulated oncogene alpha
I-309	Human CC chemokine I-309
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1
IFN- γ	Interferon gamma
IL	Interleukins 1 alpha, 1 beta, 2, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 13, 16, 17, 17E, 18, 21, 27 and 32 alpha
IL-1RA	Interleukin-1 receptor antagonist
IP-10	Interferon gamma-induced protein-10
I-TAC	Interferon-inducible T cell alpha chemoattractant
MCP-1	Monocyte chemoattractant protein-1
MIF	Macrophage migration inhibitory factor
MIP-1 α/β	Macrophage inflammatory protein-1 alpha/beta
RANTES	Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted
Serpin E1	Plasminogen activator inhibitor-1
SDF-1	Stromal cell-derived factor-1
TNF- α	Tumor necrosis factor alpha
sTREM-1	Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1

Acknowledgements

We gratefully acknowledge the assistance of Mrs. Roseli Polo in all phases of the study. We also acknowledge Dr. Ana Maria Thomaz, Dr. Leina Zorzanelli and Dr. Rilvani C. Gonçalves for helping with patient care management and Dr. Juliano Penha for specific study-related surgical actions. We appreciate the collaborative participation of the pediatric nurses Mrs. Angela M. L. Marques and Renata S. Tito and the collaborative work of pediatric cardiologists and cardiac surgeons, intensivists and all colleagues of the multiprofessional team involved in assisting patients at the Heart Institute (InCor), São Paulo, Brazil. Part of a doctoral thesis by Kelly Cristina de Oliveira Abud to the Program in Cardiology, University of São Paulo School of Medicine, São Paulo, Brazil.

Author contributions

KCOA participated in the study rationale and design and was responsible for patient recruitment, sample acquisition, overall data organization and the writing of the main draft of the manuscript. ESC, MFSS, PVG and CRPC collaborated in patient recruitment and sample acquisition, obtainment of clinical, hemodynamic and echocardiographic data pre- and postoperatively, helped organize database and helped revise and edit the manuscript. LSVB and NYM participated in the study rationale and design, were responsible for laboratory procedures related to virus detection and analysis of inflammatory mediators, respectively, and helped revise the manuscript. MR, CMM and JP were research advisors in the specific areas of vascular biology, virology and inflammation, respectively, and were central in supervising the research. They were deeply involved in the study conceptualization, rationale and design. AAL was responsible for conceptualization, study rationale and design, funding acquisition, statistical analysis and final editorial work. All authors read and approved the final work.

Funding

This study was supported by FAPESP—Foundation for Research Support of the State of São Paulo [Grant # 2019/19289-7].

Availability of data and materials

The data used to support the conclusion of the present study correspond to the project FAPESP "Respiratory viruses, systemic inflammation and postoperative pulmonary hypertension in congenital heart disease", and are available from the corresponding author upon request.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

The study protocol was approved by the Institutional Scientific and Ethics Committee, CAPPesq no. 3.735.675. Informed consent was obtained from the patient's parents before enrollment in the study.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors of the study declare no competing interests.

Author details

¹Heart Institute (InCor), University of São Paulo School of Medicine, São Paulo, Brazil. ²Virology Laboratory, Institute of Tropical Medicine, University of São Paulo School of Medicine, São Paulo, Brazil. ³Pró-Sangue Foundation, São Paulo, Brazil. ⁴Laboratory of Medical Investigation on Pathogenesis and Targeted Therapy in Onco-Immuno-Hematology (LIM-31), University of São Paulo, São Paulo, Brazil. ⁵Division of Pediatric Cardiology, Department of Pediatrics, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA, USA.

Received: 5 January 2023 Accepted: 8 January 2023

Published online: 20 January 2023

References

- Gorenflo M, Gu H, Xu Z. Peri-operative pulmonary hypertension in paediatric patients: current strategies in children with congenital heart disease. *Cardiology*. 2010;116:10–7. <https://doi.org/10.1159/000313864>.
- Kaestner M, Schranz D, Warnecke G, Apitz C, Hansmann G, Miera O. Pulmonary hypertension in the intensive care unit. Expert consensus statement on the diagnosis and treatment of paediatric pulmonary hypertension. The European Paediatric Pulmonary Vascular Disease Network, endorsed by ISHLT and DGPK. *Heart*. 2016;102(Suppl 2):ii57–66. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2015-307774>.
- Marwali EM, Rayhan M, Roebiono PS. Nitroglycerin inhalation for acute treatment of pulmonary arterial hypertension in children with congenital heart disease. *Cardiol Young*. 2021;31:1381–5. <https://doi.org/10.1017/S1047951121002092>.
- D'Alto M, Mahadevan VS. Pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease. *Eur Respir Rev*. 2012;21:328–37. <https://doi.org/10.1183/09059180.00004712>.
- Adatia I, et al. Pulmonary hypertension and postoperative congenital heart disease. In: Beghetti M, et al., editors. *Pediatric pulmonary hypertension*. Munich: Elsevier Urban & Fischer; 2011. p. 209–32.
- Falcone N. Hipertensión pulmonar en cirugía cardíaca pediátrica [Pulmonary hypertension in pediatric heart surgery]. *Rev Esp Anestesiol Reanim*. 2001;48:462–4 (in Spanish).
- Sugawara Y, Mizuno Y, Oku S, Goto T. Effects of vasopressin during a pulmonary hypertensive crisis induced by acute hypoxia in a rat model of pulmonary hypertension. *Br J Anaesth*. 2019;122:437–47. <https://doi.org/10.1016/j.bja.2019.01.014>.
- Spaeder MC, Carson KA, Vricella LA, Alejo DE, Holmes KW. Impact of the viral respiratory season on postoperative outcomes in children undergoing cardiac surgery. *Pediatr Cardiol*. 2011;32:801–6. <https://doi.org/10.1007/s00246-011-9985-9>.
- Moymihan K, Barlow A, Alphonso N, Anderson B, Johnson J, Nourse C, et al. Impact of viral respiratory pathogens on outcomes after pediatric cardiac surgery. *Pediatr Crit Care Med*. 2017;18:219–27. <https://doi.org/10.1097/PCC.0000000000001083>.
- Li X, Wang X, Li S, Zeng M, Li D. Viral respiratory infection, a risk in pediatric cardiac surgery: a propensity-matched analysis. *Pediatr Crit Care Med*. 2020;21:e431–40. <https://doi.org/10.1097/PCC.0000000000002308>.
- Wang X, Yue TL, Ohlstein EH, Sung CP, Feuerstein GZ. Interferon-inducible protein-10 involves vascular smooth muscle cell migration, proliferation, and inflammatory response. *J Biol Chem*. 1996;271:24286–93. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.39.24286>.
- Chung KF, Barnes PJ. Cytokines in asthma. *Thorax*. 1999;54:825–57. <https://doi.org/10.1136/thx.54.9.825>.
- Daley E, Emson C, Guignabert C, de Waal MR, Louten J, Kurup VP, et al. Pulmonary arterial remodeling induced by a Th2 immune response. *J Exp Med*. 2008;205:361–72. <https://doi.org/10.1084/jem.20071008>.
- Zeng R, Li C, Li N, Wei L, Cui Y. The role of cytokines and chemokines in severe respiratory syncytial virus infection and subsequent asthma. *Cytokine*. 2011;53:1–7. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2010.09.011>.
- Cakebread JA, Haitchi HM, Xu Y, Holgate ST, Roberts G, Davies DE. Rhinovirus-16 induced release of IP-10 and IL-8 is augmented by Th2 cytokines

- in a pediatric bronchial epithelial cell model. *PLoS ONE*. 2014;9: e94010. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094010>.
16. Shelfoon C, Shariff S, Traves SL, Kooi C, Leigh R, Proud D. Chemokine release from human rhinovirus-infected airway epithelial cells promotes fibroblast migration. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138:114-22.e4. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.12.1308>.
 17. Shariff S, Shelfoon C, Holden NS, Traves SL, Wiehler S, Kooi C, et al. Human rhinovirus infection of epithelial cells modulates airway smooth muscle migration. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2017;56:796–803. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2016-0252OC>.
 18. Hislop AA. Airway and blood vessel interaction during lung development. *J Anat*. 2002;201:325–34. <https://doi.org/10.1046/j.1469-7580.2002.00097.x>.
 19. Hansmann G, Koestenberger M, Alastalo TP, Apitz C, Austin ED, Bonnet D, et al. 2019 updated consensus statement on the diagnosis and treatment of pediatric pulmonary hypertension: the European Pediatric Pulmonary Vascular Disease Network (EPPVDN), endorsed by AEP, ESPR and ISHLT. *J Heart Lung Transplant*. 2019;38:879–901. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2019.06.022>.
 20. Souza MFS, Penha JG, Maeda NY, Galas FRBG, Abud KCO, Carvalho ES, et al. Postoperative pulmonary hemodynamics and systemic inflammatory response in pediatric patients undergoing surgery for congenital heart defects. *Mediat Inflamm*. 2022;2022:3977585. <https://doi.org/10.1155/2022/3977585>.
 21. Gales MG, Jeffries HE, Niebler RA, Pasquali SK, Donohue JE, et al. Vasoactive-inotropic score is associated with outcome after infant cardiac surgery: an analysis from the pediatric cardiac critical care consortium and virtual PICU system registries. *Pediatr Crit Care Med*. 2014;15:529–37. <https://doi.org/10.1097/PCC.0000000000000153>.
 22. Ribeiro ZV, Tsutsui JM, Miranda RDA, Mohry S, Mathias W, Lopes AA. Ecocardiografia-Doppler e parâmetros hemodinâmicos em cardiopatas congênitas com hiperfluxo pulmonar [Doppler echocardiography and hemodynamic parameters in congenital heart disease with increased pulmonary flow]. *Arq Bras Cardiol*. 2010;94:592–600. <https://doi.org/10.1590/s0066-782x2010005000042>. (in Portuguese).
 23. Rivera IR, Mendonça MA, Andrade JL, Moises V, Campos O, Silva CC, et al. Pulmonary venous flow index as a predictor of pulmonary vascular resistance variability in congenital heart disease with increased pulmonary flow: a comparative study before and after oxygen inhalation. *Echocardiography*. 2013;30:952–60. <https://doi.org/10.1111/echo.12163>.
 24. Koestenberger M, Ravekes W, Everett AD, Stueger HP, Heinzl B, Gamillscheg A, et al. Right ventricular function in infants, children and adolescents: reference values of the tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE) in 640 healthy patients and calculation of z-score values. *J Am Soc Echocardiogr*. 2009;22:715–9. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2009.03.026>.
 25. Tahamtan A, Besteman S, Samadzadeh S, Rastegar M, Bont L, Salimi V. Neutrophils in respiratory syncytial virus infection: from harmful effects to therapeutic opportunities. *Br J Pharmacol*. 2021;178:515–30. <https://doi.org/10.1111/bph.15318>.
 26. Connors TJ, Ravindranath TM, Bickham KL, Gordon CL, Zhang F, Levin B, et al. Airway CD8(+) T cells are associated with lung injury during infant viral respiratory tract infection. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2016;54:822–30. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2015-0297OC>.
 27. Hosakote YM, Liu T, Castro SM, Garofalo RP, Casola A. Respiratory syncytial virus induces oxidative stress by modulating antioxidant enzymes. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2009;41:348–57. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2008-0330OC>.
 28. Inoue N, Oka N, Kitamura T, Shibata K, Itatani K, Tomoyasu T, et al. Neutrophil elastase inhibitor sivelestat attenuates perioperative inflammatory response in pediatric heart surgery with cardiopulmonary bypass. *Int Heart J*. 2013;54:149–53. <https://doi.org/10.1536/ihj.54.149>.
 29. Delgado-Corcoran C, Witte MK, Ampofo K, Castillo R, Bodily S, Bratton SL. The impact of human rhinovirus infection in pediatric patients undergoing heart surgery. *Pediatr Cardiol*. 2014;35:1387–94. <https://doi.org/10.1007/s00246-014-0941-3>.
 30. Giffin NA, Guerra G, Robinson J, Joynnt C, Rebekya I, Ben SV. Impact of early surgical correction or palliation of congenital heart defects in infants with symptomatic viral respiratory tract infections in the current era. *JTCVS Open*. 2021;6:211–9. <https://doi.org/10.1016/j.xjon.2021.03.009>.
 31. Papadopoulos NG, Bates PJ, Bardin PG, Papi A, Leir SH, Fraenkel DJ, et al. Rhinoviruses infect the lower airways. *J Infect Dis*. 2000;181:1875–84. <https://doi.org/10.1086/315513>.
 32. To KKW, Yip CCY, Yuen KY. Rhinovirus—from bench to bedside. *J Formos Med Assoc*. 2017;116:496–504. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2017.04.009>.
 33. Kieninger E, Singer F, Tapparel C, Alves MP, Latzin P, Tan HL, et al. High rhinovirus burden in lower airways of children with cystic fibrosis. *Chest*. 2013;143:782–90. <https://doi.org/10.1378/chest.12-0954>.
 34. Hayden FG. Rhinovirus and the lower respiratory tract. *Rev Med Virol*. 2004;14:17–31. <https://doi.org/10.1002/rmv.406>.
 35. Jackson DJ, Gern JE. Rhinovirus infections and their roles in asthma: etiology and exacerbations. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2022;10:673–81. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2022.01.006>.
 36. Cox DW, Le Souëf PN. Rhinovirus and the developing lung. *Paediatr Respir Rev*. 2014;15:268–74. <https://doi.org/10.1016/j.prv.2014.03.002>.
 37. Papadopoulos NG, Sanderson G, Hunter J, Johnston SL. Rhinoviruses replicate effectively at lower airway temperatures. *J Med Virol*. 1999;58:100–4. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9071\(199905\)58:1%3c100:aid-jmv16%3e3.0.co;2-d](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9071(199905)58:1%3c100:aid-jmv16%3e3.0.co;2-d).
 38. Likořska A, Gawrysiak M, Gajewski A, Klimczak K, Michlewska S, Szewczyk R, et al. Human lung vascular endothelium may limit viral replication and recover in time upon the infection with rhinovirus HRV16. *APMIS*. 2022;130:678–85. <https://doi.org/10.1111/apm.13269>.
 39. Wark PA, Bucchieri F, Johnston SL, Gibson PG, Hamilton L, Mimica J, et al. IFN-gamma-induced protein 10 is a novel biomarker of rhinovirus-induced asthma exacerbations. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;120:586–93. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.04.046>.
 40. Hasegawa K, Hoptay CE, Harmon B, Celedón JC, Mansbach JM, Piedra PA, et al. Association of type 2 cytokines in severe rhinovirus bronchiolitis during infancy with risk of developing asthma: a multicenter prospective study. *Allergy*. 2019;74:1374–7. <https://doi.org/10.1111/all.13723>.
 41. Southworth T, Pattwell C, Khan N, Mowbray SF, Strieter RM, Erpenbeck VJ, et al. Increased type 2 inflammation post rhinovirus infection in patients with moderate asthma. *Cytokine*. 2020;125: 154857. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2019.154857>.
 42. Chen G, Zuo S, Tang J, Zuo C, Jia D, Liu Q, et al. Inhibition of CRTH2-mediated Th2 activation attenuates pulmonary hypertension in mice. *J Exp Med*. 2018;215:2175–95. <https://doi.org/10.1084/jem.20171767>.
 43. Chung JY, Han TH, Kim JS, Kim SW, Park CG, Hwang ES. Th1 and Th2 cytokine levels in nasopharyngeal aspirates from children with human bocavirus bronchiolitis. *J Clin Virol*. 2008;43:223–5. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2008.06.008>.
 44. Khalifaoui S, Eichhorn V, Karagiannidis C, Bayh I, Brockmann M, Pieper M, et al. Lung infection by human bocavirus induces the release of proinflammatory mediator cytokines in vivo and in vitro. *PLoS ONE*. 2016;11: e0147010. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147010>.
 45. Revercomb L, Hanmandlu A, Wareing N, Akkanti B, Karmouty-Quintana H. Mechanisms of pulmonary hypertension in acute respiratory distress syndrome (ARDS). *Front Mol Biosci*. 2021;7: 624093. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.624093>.
 46. Tang C, Luo Y, Li S, Huang B, Xu S, Li L. Characteristics of inflammation process in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats. *Biomed Pharmacother*. 2021;133: 111081. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111081>.
 47. Zhang B, Luo Y, Liu ML, Wang J, Xu DQ, Dong MQ, et al. Macrophage migration inhibitory factor contributes to hypoxic pulmonary vasoconstriction in rats. *Microvasc Res*. 2012;83:205–12. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2011.09.014>.
 48. Sanchez O, Marcos E, Perros F, Fadel E, Tu L, Humbert M, et al. Role of endothelium-derived CC chemokine ligand 2 in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;176:1041–7. <https://doi.org/10.1164/rccm.200610-1559OC>.
 49. Ikeda Y, Yonemitsu Y, Kataoka C, Kitamoto S, Yamaoka T, Nishida K, et al. Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy attenuates pulmonary hypertension in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;283:H2021–8. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00919.2001>.
 50. Gosemann JH, Friedmacher F, Hofmann A, Zimmer J, Kuebler JF, Rittinghausen S, et al. Prenatal treatment with rosiglitazone attenuates vascular remodeling and pulmonary monocyte influx in experimental congenital diaphragmatic hernia. *PLoS ONE*. 2018;13: e0206975. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206975>.

51. Singh S, Anshita D, Ravichandiran V. MCP-1: function, regulation, and involvement in disease. *Int Immunopharmacol*. 2021;101(Pt B): 107598. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107598>.
52. Justus G, Walker C, Rosenthal LM, Berger F, Miera O, Schmitt KR. Immunodepression after CPB: cytokine dynamics and clinics after pediatric cardiac surgery—a prospective trial. *Cytokine*. 2019;122: 154018. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.03.017>.
53. Arend WR. The balance between IL-1 and IL-1Ra in disease. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2002;13:323–40. [https://doi.org/10.1016/s1359-6101\(02\)00020-5](https://doi.org/10.1016/s1359-6101(02)00020-5).

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions



