

**ERLON DE AVILA CARVALHO**

**Modulação da resposta inflamatória e imunológica pela  
eletroestimulação vagal em porcos submetidos à ressecção  
pulmonar por toracotomia convencional ou cirurgia robótica**

Versão Corrigida

(A versão original se encontra disponível na Biblioteca do Programa de Pós-graduação de Cirurgia Torácica e Cardiovascular e na Biblioteca digital de Teses e Dissertações da USP)

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

Programa de Cirurgia Torácica e  
Cardiovascular

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Mingarini Terra

**São Paulo**

**2021**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

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

©reprodução autorizada pelo autor

Carvalho, Erlon de Avila

Modulação da resposta inflamatória e imunológica pela eletroestimulação vagal em porcos submetidos à ressecção pulmonar por toracotomia convencional ou cirurgia robótica / Erlon de Avila Carvalho. -- São Paulo, 2021.

Tese (doutorado) -- Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Cirurgia Torácica e Cardiovascular.  
Orientador: Ricardo Mingarini Terra.

Descritores: 1.Cirurgia torácica 2.Estimulação do nervo vago 3.Procedimentos cirúrgicos robóticos 4.Síndrome de resposta inflamatória sistêmica 5.Neuroimunomodulação 6.Nervo vago 7.Toracotomia

USP/FM/DBD-032/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

***Dedicatória***

---

*A minha esposa Paula por ser parte da minha vida, pelo apoio incondicional durante todos esses anos, por ser uma maravilhosa mãe e cuidar tão bem do nosso amado filho. Obrigado pelo companheirismo desde o início, sem você eu nunca conseguiria.*

*Aos meus pais Edison e Edina que são o alicerce de tudo, que me ensinaram a honrar os valores da vida.*

*Aos meus sogros Paulo e Tânia pela ajuda nessa jornada e pelo carinho com meu filho. Muito obrigado por tudo.*

*E principalmente para meu filho Bernardo, o grande amor, que é o meu coração batendo fora do meu corpo e pode ter certeza de que estaremos juntos nessa estrada da vida para sempre. Eu te amo meu filho e que siga o caminho do bem para se tornar um homem honrado, justo e honesto. Acima de toda a riqueza há a nobreza de um coração bondoso. Faça de si o instrumento do bem! E que continue o que comecei...*

*E também aos que já partiram e não estão mais nesse mundo, mas sei que me observam e me protegem do outro, em especial minha amada vó "Bia", saudade eterna.*

***Agradecimentos***

---

*Ao meu orientador Prof. Dr. Ricardo Terra que me acolheu de braços abertos e que me serve de inspiração na maravilhosa arte da cirurgia torácica, um grande cientista, cirurgião e mestre que me mostrou que a ciência é o caminho e a solução.*  
*“Scientia vincit”*

*À Mariane, Raquel, Rosana, Mayra e Ana Carol que participaram ativamente durante toda a pesquisa, sempre prontas e dispostas a me ajudar. Obrigado pela parceria.*

*A Márcia da secretaria do Tórax pela eficiência, capacidade e disposição em ajudar e se tornou um ponto de apoio no INCOR.*

*Ao prof. Dr Daniel Ciampi pela ajuda e orientação na pesquisa, sempre com bons conselhos e uma sapiência exemplar e motivante.*

*A todos os mestres que tive desde a faculdade e nas minhas residências, vocês me ensinaram muito durante toda minha trajetória e hoje sou um pouco de cada um de vocês. Obrigado a todos.*

*Ao veterinário Bruno e os auxiliares Alan, Flávio e Renato pela ajuda os experimentos e nas intermináveis noites de pesquisa.*

*Ao Superintendente de pesquisa do Hospital Sírio Libanês Prof. Dr Luiz Fernando por acreditar no projeto e dar o apoio necessário.*

*A todos do Instituto de Ensino e Pesquisa do Hospital Sírio Libanês pela ajuda durante os vários anos de pesquisa e à Ângela pela ajuda nos agendamentos dos experimentos.*

*Ao amigo Mário Pastore por me acolher quando eu estava no início da minha carreira e por me mostrar como ser um exemplo de líder que todos amam.*

*Ao grande amigo André Portela, de colega de residência, preceptor e depois amigos de trabalho e de sonhos quase utópicos de viver uma medicina melhor. A nossa luta diária por uma medicina séria, honesta e valorizada está apenas começando.*

*Aos meus ex-residentes que se tornaram grandes amigos, em especial Marina, Marcelowsky e Andreza. Estou orgulhoso ao ver que se tornaram grandes médicos e que pude fazer parte da vida e formação de vocês.*

*Ao prof. Paulo Pego pela liderança no Grupo de Cirurgia Torácica da FMUSP.*

*Aos colegas da cirurgia torácica do Instituto Mário Penna, Rodrigo e Matheus, agradeço a ajuda durante a minha ausência nesses anos de doutorado.*

*Aos colegas do Hospital Alberto Cavalcanti por tornar o ambiente de trabalho mais caloroso e feliz.*

*Aos colegas do Hospital Risoleta Neves pelos vários anos de convívio e trabalho.*

*Aos meus colegas de residências no Hospital das Clínicas Samuel Libânio, Hospital Luxemburgo, INCA e IPSEMG, agradeço a convivência durante esse período de formação, luta, crescimento pessoal e profissional.*

*Aos amigos dos esportes; jiu-jitsu, musculação, boxe e tantos outros que vivi durante toda a minha vida; esportes que ajudaram a moldar meu caráter e meu estilo de vida que levarei até o fim da minha vida.*

*Aos mestres precursores do início da cirurgia torácica na história da medicina no século XV e a todos os cirurgiões, cientistas e pesquisadores torácicos que fizeram a história da especialidade ao longo dos últimos 150 anos. O nome de todos vocês ecoa pela eternidade e vou honrá-los com determinação.*

*A todos os pacientes que passaram pela minha vida, aos que curaram, aos que partiram e aos que virão, faço da minha vida uma longa busca pelo conhecimento para fazer o melhor para todos vocês.*



***Epígrafe***

---

*“Aquilo que não me mata, me torna mais forte”*

*Friedrich Nietzsche*

*“Se eu enxerguei tão longe, foi porque me apoiei em ombros de gigantes”*

*Issac Newton*

*“Aprender é a única coisa que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende”*

*Leonardo Da Vinci*

# ***Normatização Adotada***

---

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

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver)

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

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

## ***Sumário***

---

	Pág.
<b>Lista de abreviaturas, siglas e simbolo</b>	
<b>Lista de figuras</b>	
<b>Lista de fotos</b>	
<b>Lista de gráficos</b>	
<b>Lista de tabelas</b>	
<b>Resumo</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>30</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>35</b>
2.1 Cirurgia minimamente invasiva para reduzir a Resposta Inflamatória Sistêmica.....	36
2.1.1 Benefícios da Cirurgia minimamente invasiva em cirurgia torácica.....	37
2.1.2 A robótica como opção minimamente invasiva.....	38
2.1.3 O nervo vago.....	39
2.1.4 A via neural anti-inflamatória.....	42
2.1.5 Estímulo vagal e efeitos pulmonares.....	46
2.1.6 Uso Clínico da estimulação vagal.....	47
<b>3 HIPÓTESE.....</b>	<b>49</b>
<b>4 OBJETIVOS.....</b>	<b>51</b>
<b>5 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>53</b>
5.1 Desenho experimental e procedimentos.....	54
5.2 Avaliações fisiológicas, marcadores inflamatórios histopatológicos.....	68
5.3 Análise Estatística.....	71

---

<b>6</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>73</b>
6.1	Funcionalidade do eletrodo.....	74
6.2	Resultados Mortalidade .....	74
6.3	Tempo de cirurgia.....	75
6.4	Resultados de dados clínicos e hemodinâmicos.....	76
6.5	Resultados complicações clínicas.....	77
6.6	Resultados de análises de citocinas no plasma.....	80
6.7	Resultados de análises do lavado broncoalveolar.....	83
6.8	Resultados análise histológica do parênquima pulmonar.....	88
6.9	Resultados da quantificação de citocinas do parênquima pulmonar.....	89
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>96</b>
7.1	Modelo experimental suíno.....	97
7.2	Mortalidade.....	98
7.3	Dados clínicos e hemodinâmicos.....	99
7.4	Complicações clínicas.....	100
7.5	Citocinas avaliadas no plasma.....	101
7.6	Citocinas do lavado broncoalveolar.....	103
7.7	Citocinas do parênquima pulmonar.....	107
7.8	Limitações.....	111
7.9	Considerações finais.....	112
<b>8</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>113</b>
<b>9</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>115</b>
<b>10</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>194</b>

## ***Listas***

---



## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Ach: acetilcolina

AchR: receptor de acetilcolina

BAL: lavado broncoalveolar

BAV: bloqueio átrio-ventricular

Bpm: batimentos por minuto

CE: Com estímulo

CEUA: Comissão de ética na utilização de animais

CMI: Cirurgia minimamente invasiva

CPNPC: Câncer de pulmão não pequenas células

COBEA: Colégio brasileiro de experimentação animal

DMOS: Disfunção múltipla de órgãos e sistemas

EDTA: ácido etilenodiamino tetra acético

EUA: Estados Unidos da América

ETCO<sub>2</sub>: fração expirada de CO<sub>2</sub>

EV: estímulo vagal

FDA: Food and drugs administration

FAPESP: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

FIO<sub>2</sub>: fração inspirada de oxigênio

FR: frequência respiratória

FC: frequência cardíaca

GM-CSF: Fator estimulador de colônias granulócitos e macrófagos

GT: grupo toracotomia

GR: grupo robótica

H: hora

HMGB1: High mobility group Box 1  
Hz: hertz  
IFN  $\gamma$ : interferon gama  
IL: Interleucina  
IM: intramuscular  
IV: intravenoso  
KG: kilograma  
LPS: lipopolissacarídeo  
mA: miliampere  
Mg: miligrama  
Min: minutos  
mL: mililitro  
MS: milissegundos  
NaCl: cloreto de sódio  
NK: natural killers  
NMD: núcelo motor dorsal  
NTS: Núcleo do trato solitário  
PaCo<sub>2</sub>: pressão parcial de dióxido de carbono  
PCR: parada cardiorrespiratória  
PEEP: pressão positiva no final da inspiração  
PIA: pressão intra-arterial  
PVC: pressão venosa central  
RIS: Resposta inflamatória sistêmica  
SatO<sub>2</sub>: saturação de oxigênio  
SE: sem estímulo  
SNC: Sistema nervoso central

SRIS: Síndrome da resposta inflamatória sistêmica

STS-GTS: The Society of Thoracic surgeons, General thoracic surgery

TB: tempo basal

TQT: traqueostomia

TNF  $\alpha$ : Fator de necrose tumoral alfa

T0: tempo zero

T1: tempo 1

T3: tempo 3

T6 tempo 6

O2: oxigênio

Xg: força centrífuga relativa

VATS: cirurgia torácica vídeo-assistida

V: volts

VIP: peptídeo vasoativo intestinal

VM: ventilação mecânica

Vt: volume corrente

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1</b> Anatomia do Nervo vago.....	41
<b>Figura 2</b> Via neural anti-inflamatória.....	43
<b>Figura 3</b> Reflexo inflamatório.....	44
<b>Figura 4</b> Modelo pulmonar de coleta das amostras.....	70

---

## LISTA DE FOTOS

	Pág.
<b>Foto 1</b> Posicionamento do animal em decúbito lateral direito.....	59
<b>Foto 2</b> Toracotomia póstero-lateral esquerda.....	60
<b>Foto 3</b> Eletroestimulador com a voltagem pré-estabelecida.....	61
<b>Foto 4</b> Eletroestimulador com a voltagem pré-estabelecida.....	61
<b>Foto 5</b> Implantação do eletrodo em nervo vago.....	62
<b>Foto 6</b> Marcação do posicionamento dos trocateres e pinças. 1) Óptica 2) Braço direito 3) Braço esquerdo 4) Auxiliar 5) Eletrododo.....	64
<b>Foto 7</b> Colocação dos trocateres sendo o trocater mais superior com o fio do eletroestimulador.....	64
<b>Foto 8</b> Eletrodo implantado através de cirurgia robótica. *: Eletrodo, **Aorta descendente, Seta: Nervo Vago.....	65

---

## LISTA DE GRÁFICOS

	Pág.
<b>Gráfico 1</b> Linha do tempo do desenho experimental.....	68
<b>Gráfico 2</b> Frequência cardíaca no Grupo Cirurgia Robótica.....	76
<b>Gráfico 3</b> Comparação do GM-CSF no soro.....	81
<b>Gráfico 4</b> Comparação IL-1Ra no soro.....	82
<b>Gráfico 5</b> Comparação IL-6 no soro.....	83

**LISTA DE TABELAS**

	Pág.
<b>Tabela 1</b> Alocação dos grupos.....	57
<b>Tabela 2</b> Tempo de cirurgia.....	75
<b>Tabela 3</b> Complicações globais.....	78
<b>Tabela 4</b> Complicações Grupo Toracotomia.....	79
<b>Tabela 5</b> Complicações Grupo Robótica.....	80
<b>Tabela 6</b> Comparação GM-CSF BAL.....	84
<b>Tabela 7</b> Comparação IFN y BAL.....	85
<b>Tabela 8</b> Comparação IL-2 BAL.....	86
<b>Tabela 9</b> Comparação IL-6 BAL.....	87
<b>Tabela 10</b> Comparação IL-4 BAL.....	88
<b>Tabela 11</b> Comparação IL-1B parênquima.....	89
<b>Tabela 12</b> Comparação IL-1Ra parênquima.....	90
<b>Tabela 13</b> Comparação IL-4 parênquima.....	91
<b>Tabela 14</b> Comparação IL-10 parênquima.....	92
<b>Tabela 15</b> Comparação IL-12 parênquima.....	93
<b>Tabela 16</b> Comparação IL-18 parênquima.....	94
<b>Tabela 17</b> Citocinas pró-inflamatórias, anti-inflamatórias e imunomoduladoras.....	101

## ***Resumo***

---



Carvalho EA. *Modulação da resposta inflamatória e imunológica pela eletroestimulação vagal em porcos submetidos à ressecção pulmonar por toracotomia convencional ou cirurgia robótica* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

**INTRODUÇÃO:** A cirurgia torácica está associada à resposta inflamatória sistêmica (RIS) e liberação de elevados níveis de citocinas que são causadores de várias complicações no pós-operatório. A cirurgia torácica minimamente invasiva foi desenvolvida com o intuito de minimizar essas complicações, pois apresenta uma menor resposta inflamatória. A eletroestimulação do nervo vago (EV) é capaz de modular a via neural anti-inflamatória e a liberação exacerbada de citocinas reduzindo a RIS e as complicações associadas. **OBJETIVOS:** O objetivo principal foi determinar se a EV no período de pós-operatório imediato de cirurgia torácica com ressecção pulmonar por toracotomia e cirurgia robótica em suínos modula a liberação de citocinas pró-inflamatórias, objetivos secundários foram avaliar os efeitos da EV na função imunológica; prevenção de complicações cardiopulmonares e perfusão hemodinâmica. **MÉTODO:** Estudo experimental em suínos com 4 grupos, Grupos 1 e 2 Toracotomia Com Estímulo Vagal (CEV) e Toracotomia Sham e; Grupos 3 e 4 Robótica CEV e Robótica Sham. Total de 24 animais, com 6 animais em cada grupo. As amostras sanguíneas foram coletadas nos níveis basais de cada animal no preparo anestésico, no período pós-operatório imediato, de 4/4 horas até completar 24 horas. Foi estimulado o nervo vago com 3,5 mA 5 Hz iniciada antes da ressecção pulmonar e continuamente até completar 24 h. Foram analisadas as dosagens de citocinas imunológicas, pró e anti-inflamatórias no soro, lavado broncoalveolar e parênquima pulmonar. As análises estatísticas descritivas para os dados quantitativos foram realizadas apresentando às médias acompanhadas dos respectivos desvios padrão (+dp). Os pressupostos da distribuição normal em cada grupo e a homogeneidade das variâncias entre os grupos foram avaliados respectivamente, com o teste de Shapiro-Wilk e com o teste de Levene. As variáveis quantitativas, onde foram analisados três fatores (Cirurgia, Estímulo e tempo), foi utilizada a Análise de Variância de Três Fatores de medidas repetidas para um único fator (Tempo). Para as variáveis quantitativas, onde foram analisados dois fatores (Cirurgia e Estímulo), foi utilizada a Análise de Variância de Duplo Fator. Todas as análises foram realizadas no software SPSS 21 com nível de significância de  $\alpha=0,05$ . **RESULTADOS:** O EV diminuiu as complicações clínicas na comparação entre os Grupos Toracotomia CEV x Sham com menos dessaturação ( $p=0,015$ ), bradicardia e BAV 2º grau ( $p=0,015$ ). O EV aumentou os níveis de citocinas imunológicas do BAL na comparação Toracotomia CE x Sham em GM-CSF ( $p=0,019$ ), IFN  $\gamma$  ( $p=0,013$ ) e IL 2 ( $p=0,031$ ) e no grupo Robótica CE x Sham o EV diminuiu IL6 no BAL ( $p=0,035$ ) e aumentou em Toracotomia CE x Sham os níveis de IL12 ( $p=0,007$ ) no parênquima

pulmonar. **CONCLUSÃO:** A estimulação vagal exerceu um efeito imunomodulador no parênquima pulmonar diminuindo a resposta inflamatória local, principalmente por ativação de citocinas antiinflamatórias e consequentemente reduzindo episódios de dessaturação, hipóxia e hipercapnia. Mostrou um efeito cardioprotetor com menor risco de bradicardia e BAV de segundo grau e teve efeito imunomodulador mais evidente no grupo Toracotomia, o qual apresentou resposta inflamatória mais exuberante.

**DESCRITORES:** Cirurgia torácica; Estimulação do nervo vago; Procedimentos cirúrgicos robóticos; Síndrome de resposta inflamatória sistêmica; Neuroimunomodulação; Nervo vago; Toracotomia.

## ***Abstract***

---

Carvalho EA. *Modulation of the inflammatory and immunological response by vagal electro-stimulation in pigs submitted to pulmonary resection by conventional thoracotomy or robotic surgery* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2021.

**INTRODUCTION:** Thoracic surgery is associated with a systemic inflammatory response (SIR) and the release of high levels of cytokines that cause several postoperative complications. Minimally invasive thoracic surgery was developed in order to minimize these complications, because it presents less inflammatory response. Electrostimulation of the vagus nerve (EV) is able to modulate the anti-inflammatory neural pathway and to exacerbate cytokine release, reducing SIR and associated complications. **OBJECTIVES:** The main objective was to determine whether IV in the immediate postoperative period of thoracic surgery with pulmonary resection by thoracotomy and robotic surgery in pigs modulates the release of pro-inflammatory cytokines; secondary objectives were to evaluate the effects of IV on immune function; prevention of cardiopulmonary complications and hemodynamic perfusion. **METHOD:** An experimental study in swine with 4 groups, in Groups 1 and 2 Thoracotomy With Vagal Stimulation (WSV) and Toracotomy Sham e; in Groups 3 and 4 Robotics WSV and Robotics Sham. Total of 24 animals, with 6 animals in each group. Blood samples were collected at baseline levels of each animal in the anesthetic preparation, in the immediate postoperative period, from 4/4 hours to 24 hours. The 3.5 mA 5 Hz vagus nerve started before pulmonary resection and continuously until 24 h were stimulated. The dosages of immunological, pro and anti-inflammatory cytokines in the serum, bronchoalveolar lavage and lung parenchyma were analyzed. The descriptive statistical analyzes for the quantitative data were carried out presented to the averages accompanied by the respective standard deviations (+ SD). The assumptions of the normal distribution in each group and the homogeneity of the variances between the groups were evaluated respectively with the Shapiro-Wilk test and with the Levene test. For the quantitative variables, where three factors were analyzed (Surgery, Stimulus and time), the Analysis of Variance of Three Factors of repeated measures for a single factor (Time) was used. For the quantitative variables, where two factors were analyzed (Surgery and Stimulus), the Double Factor Analysis of Variance was used. All analyzes were performed using the SPSS 21 software with a significance level of  $\alpha = 0.05$ . **RESULTS:** EV reduced the clinical complications in the comparison between the WSV x Sham Toracotomy Groups with less desaturation ( $p = 0.015$ ), bradycardia and second degree atrioventricular block ( $p = 0.015$ ). The EV increased the levels of immunological cytokines of the BAL in the comparison between WSV and Sham thoracotomy in GM-CSF ( $p = 0.019$ ), IFN  $\gamma$  ( $p = 0.013$ ) and IL 2 ( $p = 0.031$ ). Instead, in the WSV Robotics group x Sham the EV decreased IL6 in the BAL ( $p = 0.035$ ) and increased the levels of IL12 ( $p = 0.007$ ) in the pulmonary

parenchyma in WSV x Sham thoracotomy. **CONCLUSION:** Vagal stimulation exerted an immunomodulatory effect on the lung parenchyma by decreasing the local inflammatory response, mainly by activating anti-inflammatory cytokines and consequently reducing episodes of desaturation, hypoxia and hypercapnia. It showed a cardioprotective effect with a lower risk of bradycardia and second degree atrioventricular block and had a more evident immunomodulatory effect in the Thoracotomy group, which showed a more exuberant inflammatory response.

**DESCRIPTORS:** Thoracic surgery; Vagus nerve stimulation; Robotic surgical procedures; Systemic Inflammatory response syndrome; Neuroimmunomodulation; Vagus nerve; Thoracotomy.

# ***1 Introdução***

---

A cirurgia torácica apresentou rápido desenvolvimento após a Segunda Guerra mundial. Os cirurgiões E. Blade e E. Kent em 1940 nos Estados Unidos (EUA) iniciaram estudos experimentais sobre a dissecação dos hilos pulmonares e, em 1942, Rienhof preconizou a técnica da ligadura individual dos elementos dos hilos pulmonares<sup>1, 2</sup>. O aperfeiçoamento nas técnicas de anestesia, broncoscopia, tratamento do choque e da infecção conjugaram-se para criar as condições ideais para que a cirurgia torácica se tornasse uma especialidade. A partir da década de 1950, a cirurgia torácica vem em crescente evolução. De acordo com dados da Society of Thoracic Surgeons dos EUA, entre julho de 2002 a junho de 2018 foram realizadas nos EUA 572.790 cirurgias torácicas, com mortalidade de 10.141 pacientes (2 %)<sup>3</sup>.

Inicialmente, a toracotomia clássica era a opção de acesso cirúrgico à cavidade torácica. Na toracotomia clássica seccionamos os seguintes planos anatômicos: epiderme, subcutâneo, músculos e, na sequência, promovemos o afastamento costal com instrumentos específicos como o afastador de Finochietto. Posteriormente, desenvolveu-se a abordagem com incisões poupadoras de músculos, na qual o acesso é feito somente com dissecação muscular, não havendo secção da musculatura.

A toracotomia, portanto, implica em ruptura de vasos sanguíneos e lesão da inervação costal, descolamento de tecidos, fraturas de arcos costais durante afastamento, exposição e manuseio de estruturas nobres, comunicação do meio interno com o meio externo, perda de calor, líquidos e sangue. O trauma cirúrgico extenso, associado à reação inflamatória desencadeada, são causadores de dor torácica no pós-operatório com conseqüentes complicações que aumentam a morbidade da cirurgia torácica: atelectasia que varia entre 2,5 a 70%<sup>4</sup>, pneumonia cuja incidência está ligada diretamente à atelectasia e também à neuralgia crônica torácica que atinge 60% dos pacientes em até 1 mês após a cirurgia e 30-50% em 1 a 2 anos de pós-operatório<sup>5</sup>.

Com a destruição tecidual ocorre inflamação local e aumento da permeabilidade vascular. Neutrófilos, células e polimorfonucleares são estimulados a liberar citocinas e outros mediadores da inflamação e exacerbação do sistema imunológico. Fibras nervosas aferentes levam impulsos

do tecido lesado ao sistema nervoso central (SNC). Inicia-se, então, uma complexa inter-relação de sistemas e moléculas, a resposta neuroendócrina, com ativação do eixo hipotálamo-hipofisário-adrenal, sistema nervoso autônomo, sistema hormonal (somatotrópico, tireóideo, gonadal, etc). Ativam-se mediadores com ações locais e sistêmicas como as citocinas (interleucinas, fator de necrose tumoral alfa, óxido nítrico, etc), cortisol e sistema complemento<sup>6,7</sup>.

A inflamação que era local torna-se sistêmica. Impulsos aferentes do local da injúria estimulam a secreção de hormônio do crescimento e hormônio antidiurético pelo hipotálamo, como também aumento de catecolaminas, cortisol, glucagon e aldosterona. Para manter a homeostase inicia-se mobilização de substratos para prover energia e retenção de sódio e água para manutenção da volemia. O eixo simpático-adrenal é ativado via hipotálamo, resultando em liberação de catecolaminas, aumentando a frequência cardíaca, pressão arterial e iniciando a circulação central. Ocorre aumento da secreção de glucagon promovendo glicogenólise, gliconeogênese e lipólise, com diminuição da insulina<sup>6,7</sup>.

Os monócitos e macrófagos localizados na lesão liberam interleucina 1 (IL1), interleucina 6 (IL 6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF  $\alpha$ ), que estimulam a síntese hepática de proteínas de fase aguda, como proteína C reativa, complemento C3 (associado à cascata da coagulação) e pró-calcitonina<sup>6,7</sup>.

A resposta pró-inflamatória inicial usualmente é balanceada por uma resposta anti-inflamatória, com liberação de IL 4 e IL 10<sup>6,7</sup>. Se a resposta pró-inflamatória for exacerbada ou a anti-inflamatória for reduzida, pode-se desenvolver uma resposta inflamatória sistêmica, favorecendo sepse, síndrome da angústia respiratória aguda e podendo progredir para disfunção de múltiplos órgãos e sistemas.

Vittimberga et al (1998) mostraram que o trauma cirúrgico pode induzir à resposta de fase aguda no pós-operatório com liberação de mediadores inflamatórios, incluindo proteína C reativa, IL1, IL 6 e TNF  $\alpha$ , estando relacionada a um maior número de complicações, sejam clínicas, metabólicas e imunológicas<sup>8</sup>.



Reconhece-se que resposta inflamatória sistêmica (RIS) é diretamente proporcional ao grau de trauma cirúrgico. A magnitude e duração da RIS pode influenciar diretamente na sobrevivência do paciente, porque quando descontrolada é fator causal de disfunção de múltiplos órgãos e sistemas. Em função disto vários estudos foram e são realizados para amenizar e tratar a RIS.

Uma cirurgia de grande porte irá causar maior agressão tecidual e conseqüentemente maior RIS com níveis elevados de citocinas. Essa maior inflamação pós-operatória está associada a um maior risco de complicações, como choque séptico e disfunção múltipla de órgãos e sistemas (DMOS).

A solução estava em realizar procedimentos cirúrgicos com menor agressão tecidual, com menor liberação de mediadores inflamatórios, na tentativa de diminuir o risco de complicações pós-operatórias.

Desde então, alternativas foram propostas e pesquisadas no intuito de atenuar a RIS exacerbada. Durante a anestesia, certas drogas têm eficácia em tentar neutralizar a RIS. Analgésicos opióides suprimem a secreção hormonal pituitária e hipotalâmica, em particular o hormônio adrenocorticotrófico, cortisol e hormônio do crescimento. A anestesia epidural tem efeito ao bloquear impulsos aferentes do sítio cirúrgico para o SNC. Outras terapias como o uso de corticoides<sup>9</sup>, ou utilização de azul de metileno<sup>10</sup> também foram pesquisadas.

A RIS é um problema, seja no trauma, na infecção, sepse e no pós-operatório de cirurgias de grande porte, podendo ser fator causal de DMOS e óbito.

Existem formas para atenuar e diminuir a RIS no pós-operatório, como a cirurgia minimamente invasiva e recentemente a estimulação do nervo vago, que se consolidou como um importante mecanismo para controlar a RIS exacerbada em estudos experimentais e clínicos, poderia ser mais um adjuvante na tentativa de minimizar a RIS.

Esse novo método não foi amplamente demonstrado em cirurgias, nossa hipótese é que a eletroestimulação vagal possa atenuar e diminuir a RIS no pós-

operatório de lobectomia pulmonar e conseqüentemente diminuir os efeitos da liberação exacerbada de citocinas inflamatórias.

## ***2 Revisão da Literatura***

---

## 2.1 Cirurgia minimamente invasiva para reduzir a Resposta Inflamatória Sistêmica

Em meados da década de 80, com a introdução da colecistectomia vídeolaparoscópica teve início à Era da cirurgia minimamente invasiva. Cho et al (1994) demonstraram que a colecistectomia vídeolaparoscópica apresentava níveis diminuídos de IL 6 quando comparada à colecistectomia aberta<sup>11</sup>. Em estudo de Calvin et al (2005), a cirurgia minimamente invasiva (CMI) demonstrou os benefícios aos pacientes em termos de diminuição da morbidade pós cirúrgica, dor e na produção de citocinas pró-inflamatórias<sup>12</sup>. Recentemente para tentar minimizar o trauma cirúrgico, do ponto de vista da própria cirurgia torácica, foram desenvolvidas técnicas de cirurgia minimamente invasiva em tórax, a cirurgia torácica vídeo assistida (VATS).

Craig et al (2001), compararam 41 pacientes sendo 22 submetidos à VATS e 19 à toracotomia póstero-lateral, a maioria com câncer de pulmão. As dosagens de proteína C reativa, IL 6 e FNT $\alpha$  foram significativamente menores no grupo VATS<sup>13</sup>.

Em 2000, Yim demonstrou em 36 pacientes com câncer de pulmão estágio I, 18 submetidos à cirurgia convencional e 18 à VATS, que os níveis de IL 6, IL 8 e IL 10 eram menores no grupo submetido à VATS<sup>14</sup>.

Leaver et al (2000) estudaram os efeitos da cirurgia torácica aberta e por VATS em relação à quantidade e tipos de linfócitos circulantes, em pacientes com câncer de pulmão. Dezenove pacientes foram submetidos à cirurgia aberta e 22 à VATS. Foram colhidas amostras de sangue no pré-operatório e no 2º e 7º dias de pós-operatório. O grupo Cirurgia aberta foi associado a uma maior redução nos níveis de linfócitos T (CD4 e CD8) e linfócitos B quando comparados ao grupo VATS. Além disto, após o 2º dia de pós-operatório os níveis de CD4 e CD8 apresentaram um aumento significativo no grupo VATS, o que não ocorreu no grupo Cirurgia aberta<sup>15</sup>.

Whitson et al (2008), analisaram prospectivamente 13 pacientes em pós-operatório de lobectomia pulmonar por CPNPC, 6 submetidos à VATS e 7 à Cirurgia aberta. Foram avaliados pela citometria de fluxo os componentes celulares do sistema imune, a capacidade citotóxica de células mononucleares (CD3, CD16/56, CD4 e CD8). No 2º dia de pós-operatório a citotoxicidade celular estava significativamente maior no grupo VATS<sup>16</sup>.

### **2.1.1 Benefícios da Cirurgia minimamente invasiva em cirurgia torácica**

A VATS também tornou possível a abordagem de doenças torácicas na população idosa, nas quais, muitas das vezes, a ressecção não era possível devido à presença de complicações pulmonares. Ishida et al em 1990 demonstraram que quando pacientes idosos (70 anos ou mais) com câncer de pulmão não pequenas células (CPNPC) foram submetidos à ressecção pulmonar, apresentaram mortalidade e morbidade similar à pacientes jovens<sup>17</sup>.

Nagahiro et al (2001) analisaram 13 pacientes submetidos à VATS e 9 à toracotomia póstero-lateral, comprovando uma melhor função pulmonar e menor dor pós-operatória no grupo VATS<sup>18</sup>.

Vários estudos mostraram que a VATS é oncológica segura. Scott et al (2010), analisando 752 pacientes (66 VATS e 686 cirurgias abertas), com CPNPC T1-T2, obteve menor índice de complicações e menor tempo de internação no grupo VATS, com sobrevida equivalente nos 2 grupos<sup>19</sup>.

Liang et al (2012) avaliaram a segurança na VATS em tumores maiores: 133 pacientes com CPNPC maior que 5 cm foram operados, 46 com VATS e 87 com toracotomia aberta; não houve diferença significativa entre os grupos em relação à linfadenectomia, tempo de drenagem e recorrência da doença<sup>20</sup>.

Estudo conduzido em 2007 por Petersen et al, analisaram 100 pacientes com CPNPC submetidos a lobectomia e terapia adjuvante. Cirurgia aberta foi realizada em 43 pacientes e VATS em 57. Os pacientes do grupo VATS tiveram

significativamente menos atraso na quimioterapia e receberam 75% ou mais da dose total planejada, sem nenhuma dose reduzida<sup>21</sup>.

Nicastro et al (2008) sugeriram que pacientes submetidos a VATS no tratamento cirúrgico de câncer de pulmão toleram melhor a quimioterapia adjuvante e também apresentaram uma sobrevida<sup>22</sup>.

Jiang et al (2011) também mostraram que pacientes com CPNPC submetidos a lobectomia por VATS toleraram mais ciclos de quimioterapia que os pacientes submetidos a lobectomia aberta<sup>23</sup>.

### **2.1.2 A robótica como opção minimamente invasiva**

Nos anos 90, o sistema cirúrgico assistido por computador (Computer-Assisted Surgical system - CAS), ou cirurgia robótica, foi aprovado pelo governo federal dos EUA. Essa tecnologia foi refinada desde então, com o Sistema Cirúrgico Da Vinci (Intuitive Surgical, Inc., Sunnyvale, CA) como o único sistema de cirurgia robótica disponível comercialmente<sup>24</sup>.

O sistema da Vinci possui três componentes separados: os braços robóticos, que são montados na torre do vídeoscópio, com 3 ou 4 braços nos quais os instrumentos cirúrgicos podem ser trocados; o carro de controle integrativo, que fornece comunicação entre o console do cirurgião e os braços robóticos; e o console do cirurgião. A maioria dos instrumentos endorobóticos utilizados possui 7 graus de liberdade de rotação, denominados EndoWrist, simulando movimentos normais do punho. Essas são as características particularmente distintas que diferencia a cirurgia robótica das técnicas toracoscópicas. Além disso, a imagem tridimensional permite a percepção de profundidade que melhora a segurança e a precisão na execução de procedimentos complexos<sup>24</sup>.

Além da melhora da dor, função pós-operatória e da estética da incisão, existe uma razão fisiológica para explorar a CMI e a cirurgia robótica. O trauma

cirúrgico resulta em uma liberação organizada de citocinas (a extensão e o tipo dependem do grau de trauma, da cavidade corporal e dos sistemas orgânicos envolvidos e do processo da doença que está sendo tratado)<sup>24,25</sup>.

Bodner et al em 2004 mostraram que a cirurgia feita através da robótica era perfeitamente possível: analisou de 10 timectomias, 16 funduplicaturas, 4 esofagectomias, 5 ressecções de massas mediastinais e 1 lobectomia pulmonar inferior direita <sup>26</sup>.

Louie et al em 2012 realizaram estudo comparativo entre VATS e cirurgia robótica em ressecções pulmonares, 35 VATS e 52 por robótica. Os resultados foram similares nos dois grupos em relação a tempo cirúrgico, perda de sangue, tempo de estadia em unidade de tratamento intensivo e tempo de internação hospitalar <sup>27</sup>.

Em estudo de Louie et al de 2016, mostraram que a cirurgia robótica é efetiva e segura com mortalidade em 30 dias comparável com a VATS, para isso usaram o banco de dados da STS – GTS ( The Society of Thoracic Surgeons , General Thoracic Surgery), com 1220 pacientes submetidos a lobectomia robótica e 12378 submetidos a lobectomia por VATS, em que a lobectomia robótica teve maior duração de cirurgia, mas com tempo de internação, complicações, mortalidade em 30 dias e estadiamento linfonodal equivalente a lobectomia por VATS<sup>28</sup>.

### **2.1.3 O nervo vago**

O nervo vago é o X par craniano, o mais longo, inerva os órgãos torácicos e abdominais. Está envolvido na regulação autonômica, cardiovascular, respiratória, gastrointestinal, imune e sistema endócrino <sup>29,30</sup>.

As fibras aferentes do nervo vago são sensíveis a uma grande variedade de estímulos, incluindo pressão, dor, força, temperatura, pressão osmótica e inflamação. A informação sensorial converte no gânglio vagal, que a transmite para inúmeras regiões cerebrais e torna-se uma informação regulatória através das fibras vagais eferentes <sup>29,31</sup>.

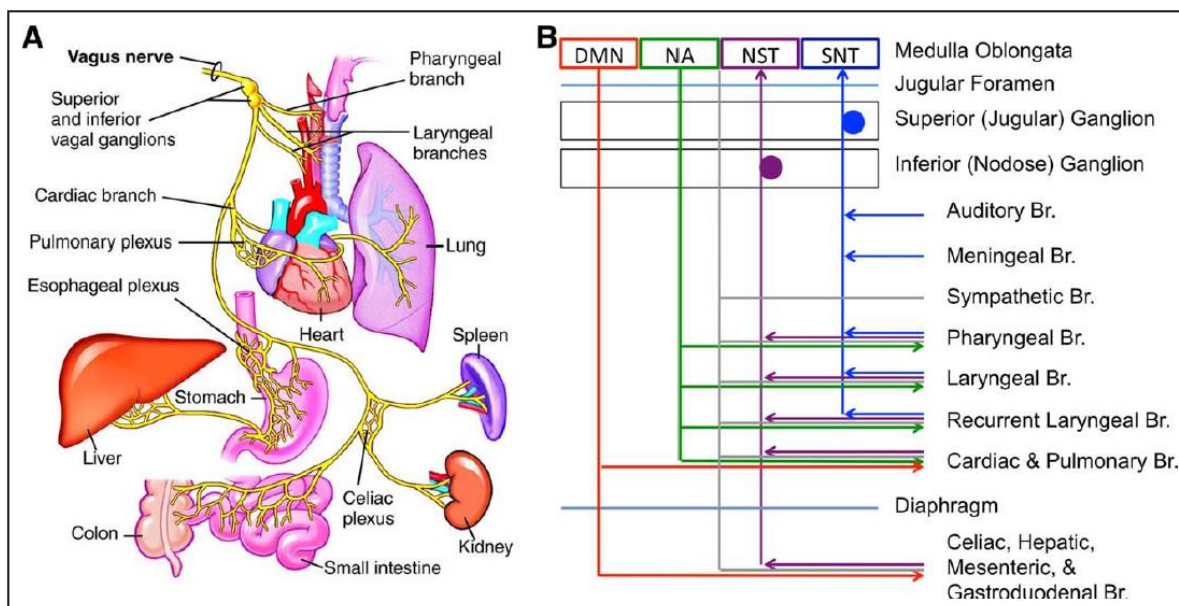
O nervo vago regula a frequência cardíaca, pressão sanguínea, resistência vascular, diâmetro da via aérea e respiração<sup>29</sup>. No trato digestório os nutrientes luminais desencadeiam não apenas o reflexo vago-vagal para iniciar a digestão e o peristaltismo, mas também a liberação de mediadores enteroendócrinos que interagem com o nervo vago (via de sinalização intestinal-cerebral)<sup>32</sup>. Ele contém fibras A-, B- e C- definidas por Erlanger e Gasser de acordo com a sua velocidade de condução e proporcionais ao seu comprimento<sup>29,33</sup>.

As fibras A grandes mielinizadas levam principalmente informações somáticas aferentes e eferentes, as fibras A pequenas mielinizadas transmitem informações aferentes viscerais. As fibras B favorecem a inervação pré-ganglionar eferente simpática e parassimpática. As fibras C pequenas e não mielinizadas transportam informação de fibras viscerais aferentes. A maioria das fibras do nervo vago são fibras C aferentes (60 % a 80%) dos órgãos viscerais<sup>29</sup>.

As fibras eferentes são principalmente colinérgicas usando acetilcolina (ACh) como seu maior neurotransmissor. As fibras não adrenérgicas não colinérgicas incluem outros neurotransmissores como óxido nítrico, peptídeo vasoativo intestinal e proteína relacionada ao gene da calcitonina<sup>29,33</sup>.

As fibras eferentes surgem do núcleo ambíguo e no núcleo dorsal motor do nervo vago. As fibras aferentes terminam na área postrema, núcleo espinhal do nervo trigêmeo e no núcleo do trato solitário. Os corpos celulares aferentes vagais estão localizados em dois gânglios, o gânglio jugular (superior) e o gânglio nodoso (inferior)<sup>29</sup>. Toda a anatomia do nervo vago está demonstrada abaixo:





**Figura 1:** Anatomia do Nervo vago.

FONTE: <http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/vagus1nerve><sup>34</sup> e Yuan et al 2016<sup>29</sup>

O nervo vago possui três tipos de fibras aferentes (sensoriais): aferente somática geral, aferente geral visceral e aferente especial visceral e dois tipos de fibras eferentes: eferente visceral geral e eferente visceral especial<sup>29</sup>.

O núcleo espinal do nervo trigêmeo recebe informações das fibras aferentes somática geral do meato auditivo externo, fossa meníngea posterior, laringe e esôfago superior. O núcleo do trato solitário (NTS) é na verdade uma série de núcleos que formam uma coluna vertical de matéria cinza no bulbo. Ele recebe informação das fibras aferentes geral visceral. O NTS anterior recebe informação de sabor da epiglote e faringe. O NTS posterior recebe informações viscerais da hipofaringe, laringe, coração, pulmões, trato digestório e arco aórtico (barorreceptores e quimiorreceptores), sensações de estímulos hormonais e de citocinas. O núcleo dorsal motor recebe informações das fibras gerais eferentes do sistema parassimpático pré ganglionar inervando todos os órgãos torácicos e abdominais. O núcleo ambíguo recebe informações das fibras eferentes especiais na divisão dorsal braquiomotor e na divisão de formação externa recebe informações de fibras gerais eferentes que inerva o gânglio cardíaco para

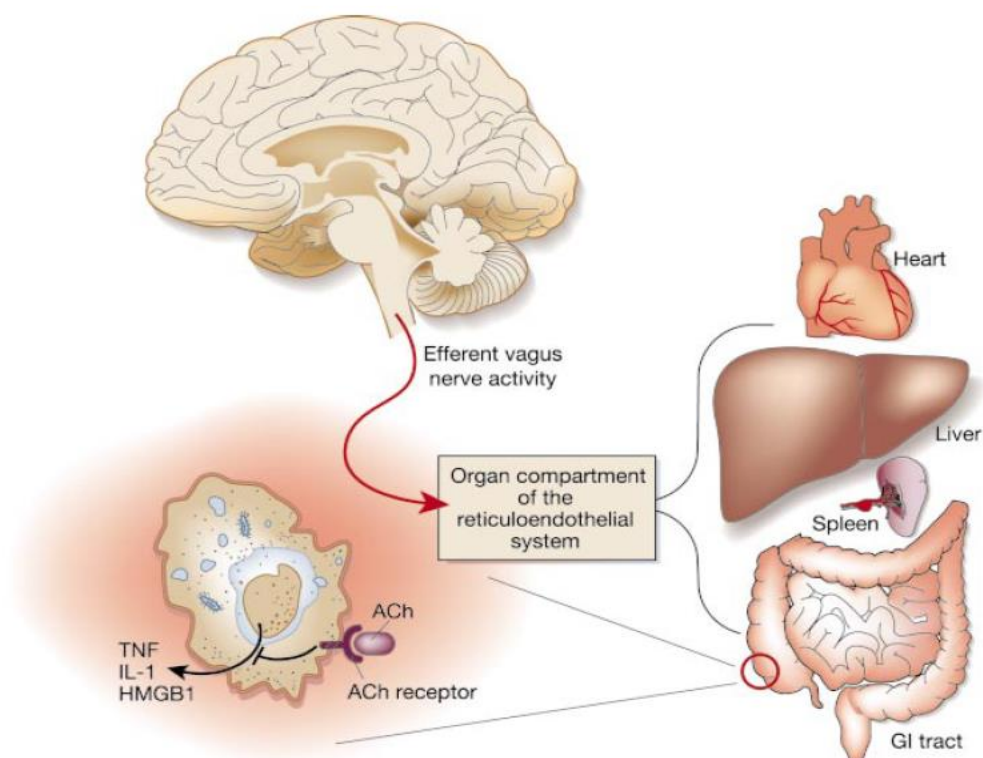
inibição e gânglio pulmonar para regulação de secreção e diâmetro das vias aéreas <sup>29</sup>.

#### **2.1.4 A via neural anti-inflamatória**

Além da CMI, outras estratégias vêm sendo desenvolvidas para minimizar os efeitos deletérios da reação metabólica ao trauma e RIS.

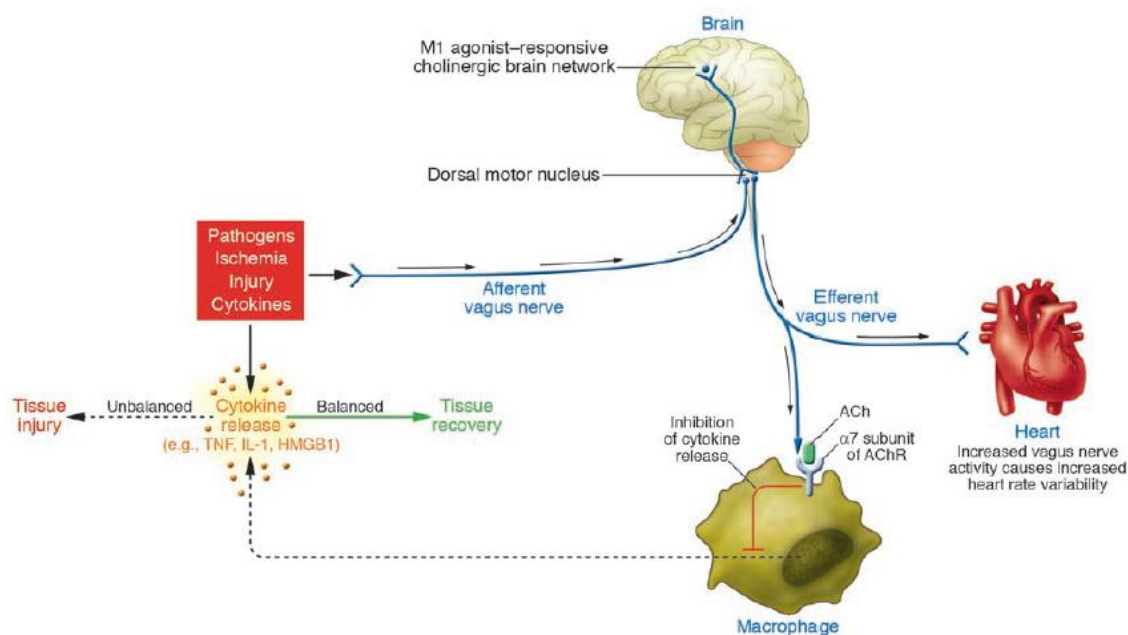
Tracey em 2002 descreveu a via neural anti-inflamatória. Estímulos inflamatórios oriundos de uma lesão são levados pelas vias aferentes até o hipotálamo que ativa uma resposta anti-inflamatória que protege a disseminação dos produtos inflamatórios na circulação<sup>35</sup>.

A via colinérgica anti-inflamatória foi descrita propondo que o nervo vago regula a produção de citocinas. O vago inerva os principais órgãos, incluindo aqueles do sistema reticulo-endotelial (fígado, pulmão, baço, rins e intestino). Os macrófagos possuem receptores nicotínicos alfa 7. Quando ocorre a descarga elétrica vagal, com a liberação de acetilcolina (Ach), ela se liga nos receptores dos macrófagos, inibindo a produção de TNF  $\alpha$ , IL 1, IL 6 e HMGB1, porém não ocorre diminuição de IL 10 <sup>35</sup>, conforme demonstrado na figura abaixo <sup>35</sup>.



**Figura 2:** Via neural anti-inflamatória Fonte: Tracey 2002 <sup>35</sup>.

Existe uma conexão da via anti-inflamatória colinérgica, que equilibra a produção de citocinas. Patógenos, isquemia e outras formas de lesão ativam a produção de citocinas, que normalmente restaura a homeostase orgânica. Se a resposta das citocinas for desequilibrada ou excessiva, no entanto, esses mesmos mediadores podem causar doenças. Sinais eferentes do nervo vago, que podem ser controlados pelas redes cerebrais, inibem a produção de citocinas por vias dependentes da subunidade  $\alpha 7$  do AChR em macrófagos e outras células. A atividade eferente do nervo vago também aumenta instantaneamente a variabilidade dos batimentos cardíacos. Uma rede cerebral colinérgica que é responsiva aos agonistas do M1 pode aumentar a atividade dos antiinflamatórios colinérgicos e aumentar a variabilidade instantânea da frequência cardíaca. Sinais aferentes transportados no nervo vago podem ativar uma resposta eferente que inibe a liberação de citocinas, denominada reflexo inflamatório <sup>36</sup>, conforme figura abaixo.



**Figura 3:** Reflexo inflamatório.

FONTE: Tracey 2007<sup>36</sup>.

Em 2005 Ulloa mostrou que o nervo vago representa uma conexão bidirecional entre o SNC e o sistema imune. O sistema imune ativa fibras sensoriais do nervo vago que faz sinapses no núcleo do trato solitário; o SNC processa as informações e retorna ativando as fibras eferentes vagais para modular e controlar o sistema imune periférico. Os neurônios eferentes originários do núcleo motor dorsal do nervo vago podem inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias dos macrófagos teciduais<sup>37</sup>.

Borovikova et al em 2000, realizaram estudos experimentais em ratos machos Lewis submetidos a isolamento cervical do nervo vago, seguido de vagotomia, com estimulação elétrica da via eferente 10 minutos (min) antes e 10 min depois da administração de dose letal de lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia coli*. O grupo de estimulação vagal eferente apresentou níveis significativamente mais baixos de TNF  $\alpha$  quando comparados ao grupo sem estimulação. Outra alteração observada foi que no grupo estimulação vagal houve menos hipotensão induzida por LPS<sup>38</sup>.

Van Westerloo et al, em 2006, concluíram que a estimulação vagal apresentava efeito inibitório sobre a ativação da anticoagulação através da diminuição dos níveis de anti-trombina e D-dímero no plasma, como também os níveis de TNF  $\alpha$  e IL 6, mas sem influência sobre os níveis de IL 10. O estudo foi realizado em ratos machos Lewis submetidos à cervicotomia com reparo do nervo vago esquerdo, seguido de estimulação elétrica com configuração 5V 2 ms 1 Hz por 10 min, antes da injeção de LPS de *Escherichia coli* e 10 min após a injeção, e as citocinas foram coletadas nos tempos de 2, 4 e 6 horas após a injúria<sup>39</sup>.

Bernik et al, em 2002, utilizaram ratos Lewis em modelo experimental de lesão por isquemia-reperfusão através da oclusão aórtica suprarrenal durante 15 min, seguido de perfusão. No grupo experimental o nervo vago cervical foi estimulado durante 5 min antes e após a oclusão da aorta com voltagem constante de 1V 2ms 5Hz. Após 120 minutos foram coletados amostras sanguíneas e os órgãos vitais do animal. Os animais do grupo controle apresentaram média de 59% maior na pressão arterial do que no grupo experimental, sendo que a estimulação vagal diminuiu significativamente os níveis de TNF  $\alpha$  no soro, coração e fígado<sup>40</sup>.

Krzyzaniak et al em 2011 realizaram estudos sobre estimulação vagal e proteção do epitélio intestinal em animais com modelo de queimados. Camundongos foram submetidos a queimadura de 30% de superfície corporal, seguidos de estimulação vagal via cervical direita aos 15, 30, 60, 90, 120 e 150 minutos após a injúria com 2 mA intermitente por 10 min. Realizada imunofluorescência, o grupo estímulo vagal apresentou permeabilidade do epitélio intestinal semelhante ao grupo Sham em tempo de até 90 minutos, assim como diminuição do TNF  $\alpha$  comparado ao grupo queimado sem estímulo<sup>41</sup>.

Em estudo de estimulação vagal associado à hemostasia em suínos de Czura et al, em 2010, foi dissecado nervo vago cervical e estimulado com configuração de 3,5mA 5Hz por 30 segundos a cada 5 min por 30 min em um total de 7 estimulações. Foi feita secção de um pedaço da orelha, observando perda de sangue pela lesão até o cessamento, definido como tempo entre quedas de gotas de sangue de locais de sangramento superior a 20 segundos.

Análise através da tromboelastografia de sangue coletado da artéria femoral mostrou que no grupo estimulação vagal o tempo de formação do coágulo foi menor quando comparado ao controle. A estimulação vagal não afetou a frequência cardíaca, pressão arterial e temperatura corporal, diminuindo significativamente também o tempo de sangramento e perda total de sangue <sup>42</sup>.

A estimulação farmacológica do nervo vago também foi testada como mostraram Bernik et al em 2012, em que o CNI-1493, que é um inibidor de ativação de macrófagos, foi comparado com estimulação vagal nas configurações de 1 V 2ms 5 Hz e 5V 2 ms 5Hz por 10 min constantes antes de injeção de endotoxina LPS de *Escherichia coli*. Em ambos os grupos ocorreu diminuição de proteínas pró-inflamatórias como TNF  $\alpha$  após 180 minutos da estimulação vagal<sup>43</sup>.

### **2.1.5 Estímulo vagal e efeitos pulmonares**

Yang et al em 2014 em artigo de revisão descreveram a inervação pulmonar vagal até vias aéreas distais e epitélio alveolar, são expressados vários receptores mecânicos, biológicos e imunológicos que sinaliza pela via aferente até o núcleo do trato solitário, pela via eferente ocorrerá ativação pelo nervo vago intra-pulmonar com liberação de acetilcolina para se ligar nos receptores  $\alpha 7$  AchR presente nos macrófagos e suprimir a ativação das células NF-KB e secreção de citocinas pró-inflamatórias <sup>44</sup>.

Yoshida et al em 2018 mostraram que o estímulo vagal foi capaz de diminuir a pressão da artéria pulmonar e prevenir o remodelamento vascular pulmonar, para isso foi realizado estudo experimental em ratos machos que foi induzido a hipertensão pulmonar através da injeção de SU5416 (inibidor específico da atividade da tirosina quinase do receptor VEGF) associado à exposição de hipóxia por 3 semanas. Foram realizados 3 grupos, sendo um controle, um estímulo simpático com hipertensão pulmonar e outro estímulo vagal com 20 Hz e 180 pulsos que foi implantado um neuroestimulador na região

dorsal do animal. Como resultados, o grupo com estímulo vagal apresentou menor média de pressão arterial pulmonar, atenuou o remodelamento vascular pulmonar e preservou a função ventricular direita<sup>45</sup>.

Foi mostrado por Levy et al em 2012 que o estímulo vagal na voltagem de 5 V por 10 minutos antes da indução do choque hemorrágico em ratos machos, protege o pulmão das respostas fisiopatológicas do choque hemorrágico, protegendo quanto ao aumento da permeabilidade vascular, diminui o seqüestro de neutrófilos no tecido pulmonar e conseqüentemente a inflamação pulmonar <sup>46</sup>.

Em outro estudo experimental, Krzyzaniak e cols. Em 2011, realizaram queimadura de 30% da superfície corporal em ratos, comparando grupo estímulo vagal na voltagem 2 mA com 1 seg intervalo por 10 minutos antes da queimadura e grupo controle sem estímulo vagal. O grupo com estímulo vagal apresentou menor inflamação pulmonar, edema pulmonar, hemorragia intrapulmonar, congestão pulmonar, diminui a quantidade de mieloperoxidase e conseqüentemente a infiltração por neutrófilos polimorfonucleares vista na imunohistoquímica <sup>47</sup>.

### **2.1.6 Uso Clínico da estimulação vagal**

Penry et al em 1990 publicaram a primeira série de casos de pacientes humanos com epilepsia tratados com terapia de estimulação vagal <sup>48</sup>. Em 1997 a terapia de estimulação vagal foi aprovada pelo Food and Drugs Administration (FDA) como adjuvante para o tratamento de pacientes adultos e adolescentes com epilepsia refratária a tratamento medicamentoso.

Em 2012, Rossi et al publicaram, na Itália, uma série de casos com 27 pacientes submetidos a cirurgia de revascularização do miocárdio. Foi demonstrada redução nos níveis de IL 6, TNF  $\alpha$ , fator de crescimento de endotélio vascular e fator de crescimento epidérmico no grupo de pacientes submetidos a

estimulação contínua do plexo ganglionar vagal, por 6 horas. As amostras de sangue foram coletadas depois de 3,6, 9 e 12 horas <sup>49</sup>.



### ***3 Hipótese***

---

## **Hipótese**

Nossa hipótese foi que a estimulação elétrica intra-operatória do nervo vago diminui os níveis de citocinas pró-inflamatórias associadas ao trauma cirúrgico na cirurgia torácica minimamente invasiva e cirurgia aberta.

## ***4 Objetivos***

---

O objetivo principal deste estudo foi:

Determinar se a eletroestimulação do nervo vago no peri-operatório de cirurgia torácica com ressecção pulmonar por toracotomia convencional ou por cirurgia robótica em suínos modula a liberação de citocinas no soro e lavado broncoalveolar (BAL), com a diminuição de citocinas pró-inflamatórias e aumento das anti-inflamatórias no período pós-operatório imediato e a cada 4 horas até completar 24 horas.

Objetivos específicos:

- Avaliar se eletroestimulação vagal modula a expressão de citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias no tecido pulmonar.
- Avaliar se a eletroestimulação vagal modula a presença de edema, inflamação e fibrose do tecido pulmonar através de análise histológica
- Avaliar se a eletroestimulação vagal influencia na perfusão tecidual, fisiologia respiratória e hemodinâmica, ritmo cardíaco, temperatura corporal.

## ***5 Materiais e Métodos***

---

Este estudo foi executado no Instituto de Ensino e Pesquisa da Sociedade Beneficente de Senhoras Hospital Sírio Libanês em parceria com a Disciplina de Cirurgia Torácica – Departamento de Cardiopneumologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. O experimento foi realizado de acordo com as Normas Internacionais para a Pesquisa Biomédica em animais e com a Lei Federal nº. 11.794, de 08 de outubro de 2008, portanto dentro dos preceitos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Aprovação CEUA USP 018/16 e CEUA Hospital Sírio Libanês 2014-08, fomentado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (processo nº: 2014/24526-4) com um valor total de financiamento de R\$111.597,72 + US\$ 22.776,52.

## 5.1 Desenho experimental e procedimentos

No estudo utilizamos um desenho fatorial no qual os animais serão primeiramente alocados dois grupos:

- **Grupo Com Estimulação vagal (CE)**
- **Grupo Sham (Sem estímulo vagal)**

Após a alocação nos dois grupos acima, os animais foram operados sequencialmente pela via de acesso: **Toracotomia seqüencial com randomização de estímulo e Robótica seqüencial com randomização de estímulo.**

Optamos pela realização de lobectomia pulmonar superior esquerda por ser anatomicamente mais parecido com o lobo superior direito do ser humano, não existindo o brônquio traqueal.

Usamos a cirurgia robótica como método minimamente invasivo por ser um modelo com dissecação mais precisa do mediastino e conseqüentemente do nervo vago, com visualização direta das estruturas vasculares.

Tempo de duração total do experimento de 24 horas para simular o pós-operatório imediato de uma cirurgia torácica.

Os animais foram mantidos sob observação por 24 horas com monitoração com ventilação mecânica em traqueostomia (TQT), hemodinâmica com pressão intra-arterial (PIA), acesso venoso central, cateter de Swan-Ganz, cistostomia para diurese, mantidos em ventilação mecânica em mesa cirúrgica na própria sala operatória com cuidados intensivos.

### **Animais Piloto**

Foi realizado um grupo Piloto com dois animais, um animal operado por Toracotomia e outro por Robótica, no intuito de treinar a técnica e averiguar e antecipar possíveis problemas que poderíamos ter durante o experimento, bem como treinar a implantação do eletrodo no nervo vago, para podermos corrigir os detalhes.

O grupo piloto transcorreu conforme o desenho do estudo, sendo monitorados por 24 h em centro cirúrgico, realizadas coletas sanguíneas, avaliação de dados hemodinâmicos e fisiológicos. Realizamos o treinamento da implantação do Swan-Ganz, punção da pressão intra-arterial e acesso venoso central guiados por aparelho de ultrassonografia.

No grupo robótica piloto definimos o posicionamento e número dos trocartes, valores da pressão do pneumotórax e fluxo de CO<sub>2</sub>. No grupo toracotomia avaliamos o melhor acesso em nível intercostal para a realização da ressecção pulmonar. Em ambos os grupos treinamos a dissecação mediastinal para a localização do nervo vago e a implantação do eletrodo.

Os dados dos animais pilotos estão descritos nos anexos.

### **Comparações padronizadas**

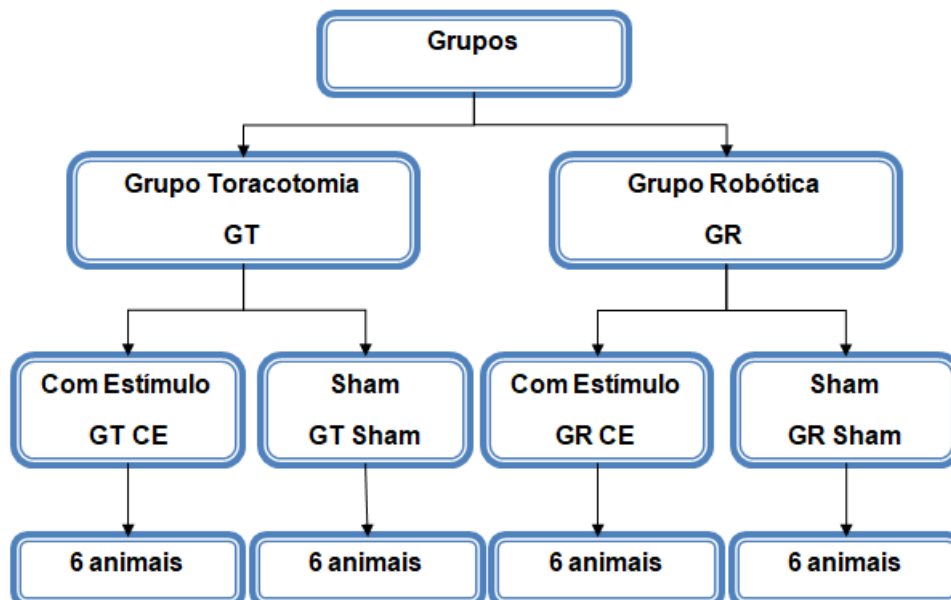
As comparações padronizadas para todas as análises, clínicas, laboratoriais e histológicas entre os grupos foram:

- **Grupo Toracotomia CE x Toracotomia Sham**
- **Grupo Robótica CE x Robótica Sham**
- **Grupo Toracotomia x Robótica independente do estímulo**
- **Grupo CE x Sham independente da cirurgia**

### **Cálculo da Amostra**

De acordo com o estudo de Rossi et al.<sup>49</sup>, os níveis séricos de IL-6 aferidos em pacientes submetidos a cirurgia cardíaca (6 horas pós-op) foram 121+- 71 pg/mL vs 280+-190 pg/mL para aqueles que receberam e não receberam estimulação vagal respectivamente. Nosso estudo é em suínos submetidos à cirurgia torácica, contudo esperamos que os resultados não sejam muito diferentes dos observados por Rossi et al., portanto para um erro alfa=0.05 e poder=0.80 serão necessários pelo menos 9 animais em cada grupo para detectar a diferença entre expostos e não expostos à estimulação vagal. Optamos por acrescentar 3 animais em cada grupo contando com certa heterogeneidade gerada por usarmos 2 vias de acesso diferentes (toracotomia convencional e robótica). O número de animais em cada grupo ficará como a seguir:



**Tabela 1:** Alocação dos grupos

## Procedimentos

### Preparo dos Animais

1) Vinte e quatro porcos da raça Minipig Br obtidos da Pesquisa e Desenvolvimento Minipig, Campina do Monte Alegre, SP, Brasil, machos, pesando entre 45 a 55 Kg foram mantidos em jejum por 12 horas com livre acesso à água. Os animais foram pré-anestesiados por via intramuscular (IM) com 0,5 mg/kg de midazolam e 5 mg/kg de cetamina. A seguir, a indução anestésica foi realizada com propofol (aproximadamente 8,0 mg/kg) por via intravenosa (IV) até perda dos reflexos permitindo a intubação orotraqueal. A intubação orotraqueal foi realizada através de tubo traqueal número 8, seguido

de traqueostomia com colocação de tubo traqueal seletivo para brônquio principal direito sendo conferido posicionamento com Smartcam Android 5 mm<sup>®</sup>. Os animais foram conectados a um ventilador Evita XL (Dräger, Lubeck, Alemanha) e monoventilados em modo volume-controlado, inicialmente com uma pressão positiva no final da expiração (PEEP) fixa em 5 cmH<sub>2</sub>O e fração inspirada de oxigênio (FiO<sub>2</sub>) de 100%, mantidos com um volume corrente (V<sub>T</sub>) de 6 mL/kg e frequência respiratória (FR) ajustada para uma pressão parcial de dióxido de carbono no sangue arterial (PaCO<sub>2</sub>) entre 35 e 45 mmHg. A manutenção anestésica foi realizada (IV) propofol (3,0 mg/kg/h), midazolam (2,0 mg/kg/h), remifentanil (11,0 µg/kg/h) e rocurônio (0,6mg/kg/h)

A seguir, realizamos a monitorização dos animais através de punção da veia subclávia direita, introduzimos cateter de artéria pulmonar guiados por visualização direta das curvas pressóricas para realizar mensurações contínuas de débito cardíaco e saturação venosa de oxigênio, bem como de volume diastólico final de ventrículo direito (Vigilance VD<sup>®</sup>, Edwards). Introduzimos um cateter na artéria femoral direita para monitorização da pressão arterial invasiva e coleta de amostras de sangue arterial. Através de cistostomia, foi inserido um cateter para monitorização do débito urinário. Os animais receberam durante todo o período de estudo infusão contínua de ringer lactato 4 mL/kg/h com incrementos necessários para manter a PVC acima de 6 mmHg. O animal foi então posicionado em decúbito lateral direito, com o hemitórax esquerdo exposto.

Uma vez que todos os equipamentos de monitorização estavam devidamente colocados, um registro inicial de todos os parâmetros foi realizado. Uma amostra de sangue basal foi também coletada para dosagem de mediadores inflamatórios.

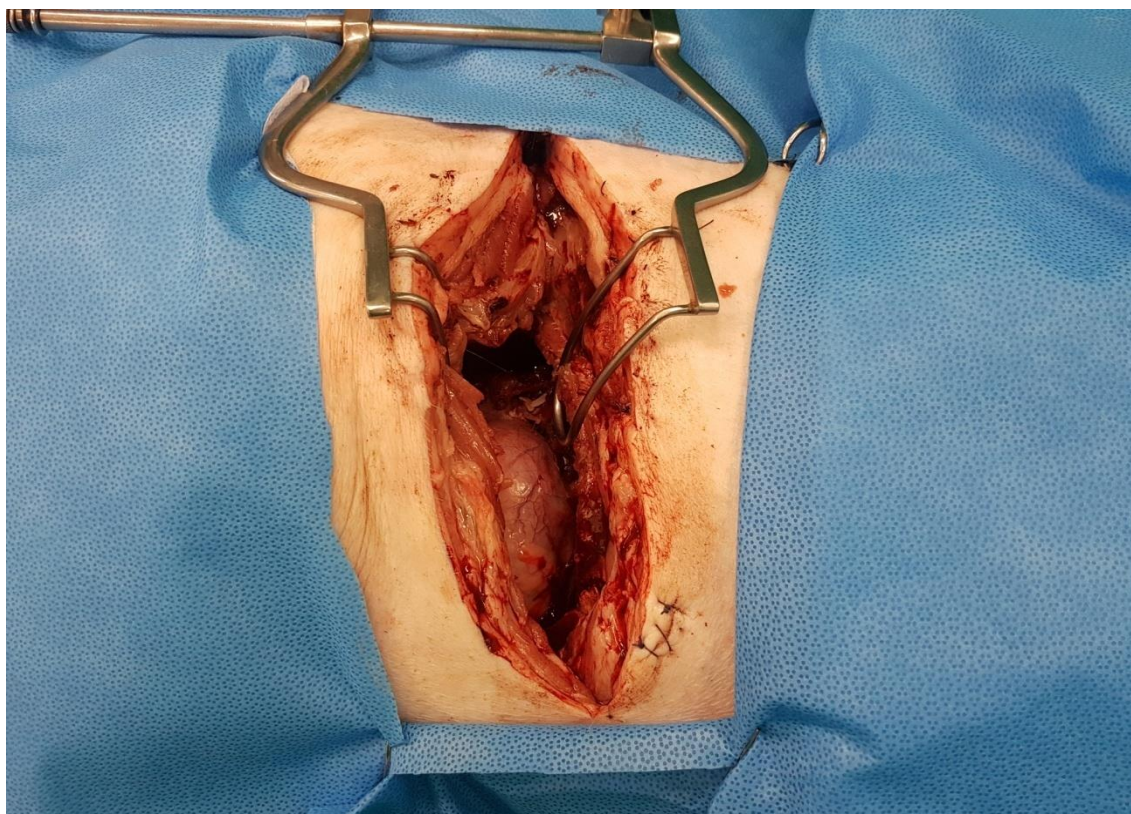
## **Cirurgia**

### **Toracotomia convencional**

Os animais foram posicionados em mesa cirúrgica em decúbito lateral direito, com pequeno coxim subaxilar. Realizamos a toracotomia lateral com incisão de 15 cm, abertura por planos (Foto 1). Identificamos o 5º arco costal esquerdo, seccionamos o espaço intercostal correspondente na borda superior da costela até abertura do plano pleural (Foto 2). Realizamos inventário da cavidade para identificação de lesões e aderências pleuro-pulmonares.



**Foto 1:** Posicionamento do animal em decúbito lateral direito



**Foto 2:** Toracotomia póstero-lateral esquerda.

Primeiro passo foi identificar o nervo vago acima da veia ázigos, dissecção pleural para completa identificação e realizado de implante sob o nervo do eletrodo Resume<sup>®</sup> TL 3986<sup>a</sup> Medtronic e iniciada a eletroestimulação na voltagem 3,5 mA 5 Hz iniciada antes da ressecção pulmonar e continuamente até completar 24h<sup>42</sup>. (Fotos 3,4,5).





Foto 3: Eletroestimulador com a voltagem pré-estabelecida.

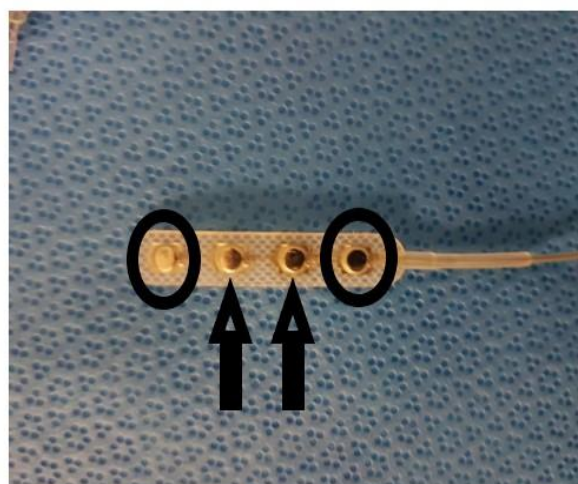
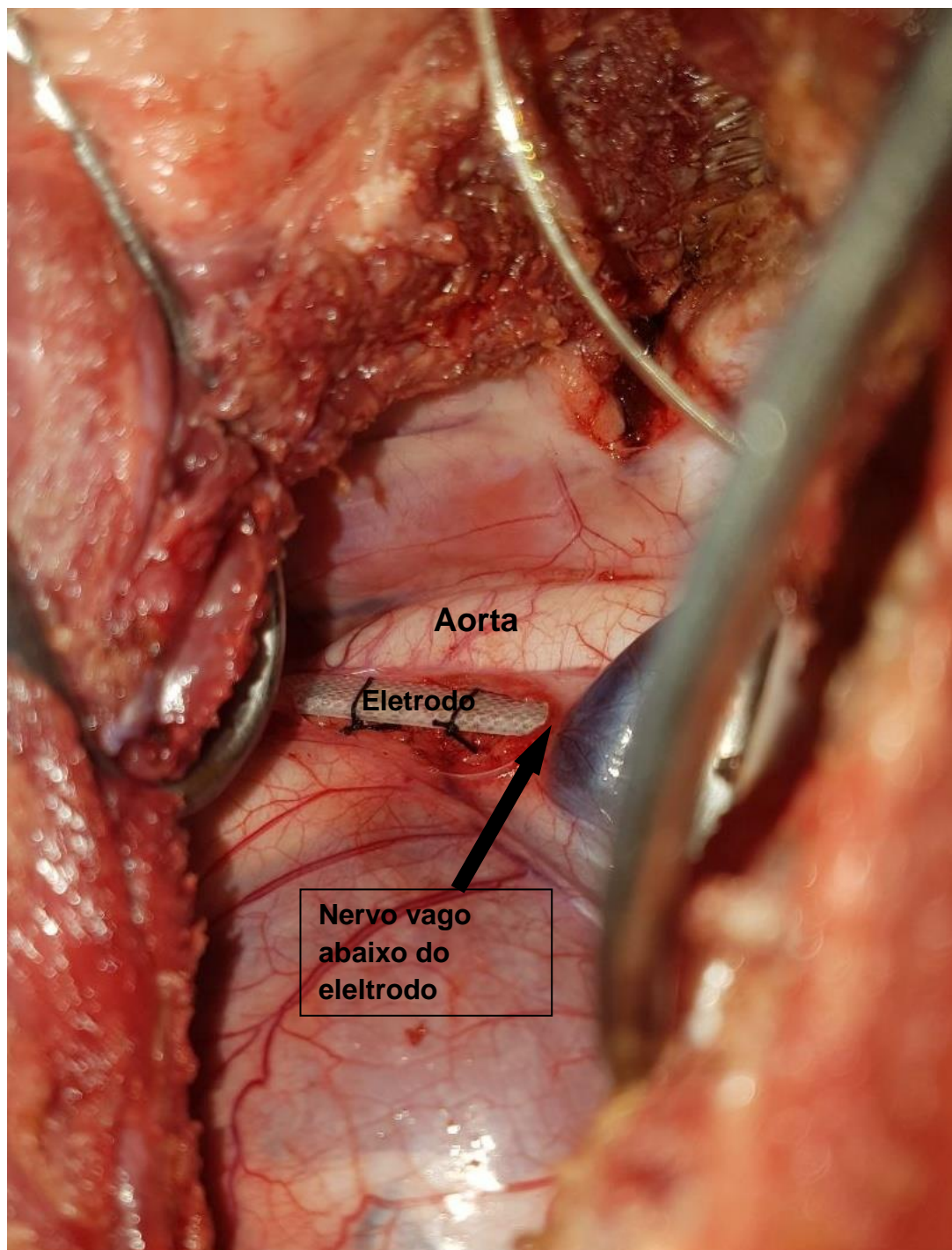


Foto 4: Estimulador com 4 polaridades Cátodo (círculo), ânodo (seta),



**Foto 5:** Implantação do eletrodo em nervo vago

Dissecamos o hilo pulmonar esquerdo com identificação da veia pulmonar superior. Após o reparo da mesma, fizemos ligadura dupla proximal e secção. Dissecamos a artéria pulmonar para o lobo superior e fizemos ligadura

dupla proximal seguida de secção. Seccionamos o parênquima pulmonar e dissecamos o brônquio de lobo superior esquerdo com grampeamento.

Após realização de lobectomia pulmonar superior esquerda e retirada da peça cirúrgica, fizemos revisão rigorosa de hemostasia e de sítio cirúrgico, seguida por drenagem da cavidade com dreno torácico nº 22. Toracorrafia por planos, sutura da pele e curativo.

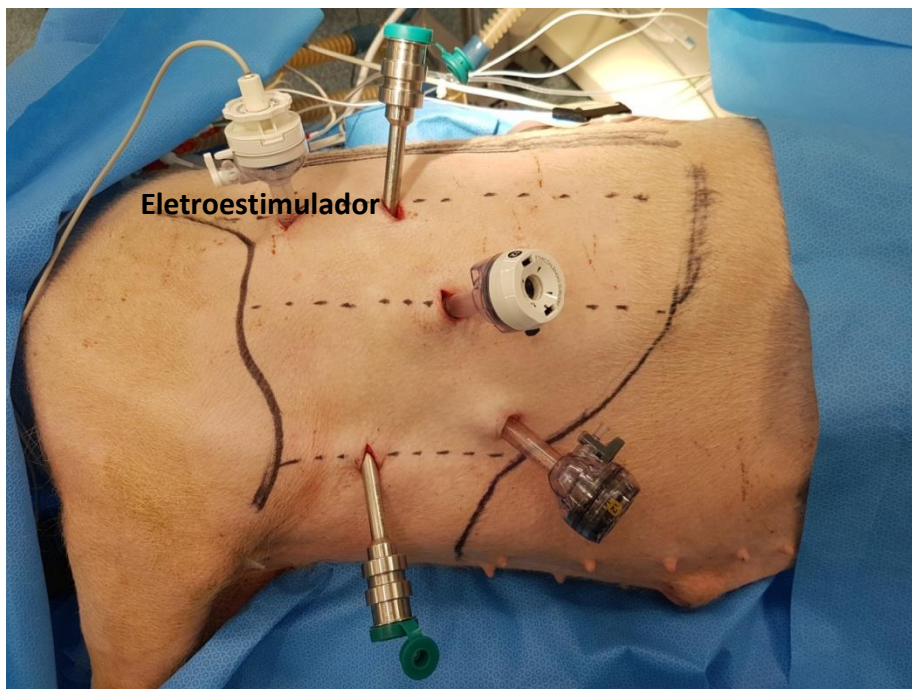
### **Acesso por cirurgia robótica**

Os animais foram posicionados em decúbito lateral direito. Robô Da Vinci S<sup>®</sup> com braços foi posicionado superiormente à cabeça do animal, carrinho de visão posicionado do lado esquerdo do animal, cirurgião auxiliar posicionado do lado direito do animal. Foram realizadas cinco incisões, sendo uma para a câmera. A incisão da câmera foi colocada no 8º espaço intercostal na linha axilar posterior ao nível da linha do apêndice xifóide. Outras duas incisões foram colocadas, uma no 7º espaço intercostal para a tesoura e outra no 6-7º espaço intercostal na linha para vertebral posterior para a pinça de dissecação. Um portal adicional foi realizado na linha axilar anterior no 9º espaço intercostal para colocação de um afastador endoscópico. Foi colocado um trocater em 5º EIC linha para vertebral com intuito de passagem do eletrodo para eletroestimulação (Fotos 6 e 7). Utilizado um pneumotórax com pressão de 6 mmHg e fluxo de 2 L/minuto.





**Foto 6:** Marcação do posicionamento dos trocateres e pinças. 1) Óptica 2) Braço direito 3) Braço esquerdo 4) Auxiliar 5) Eletrododo



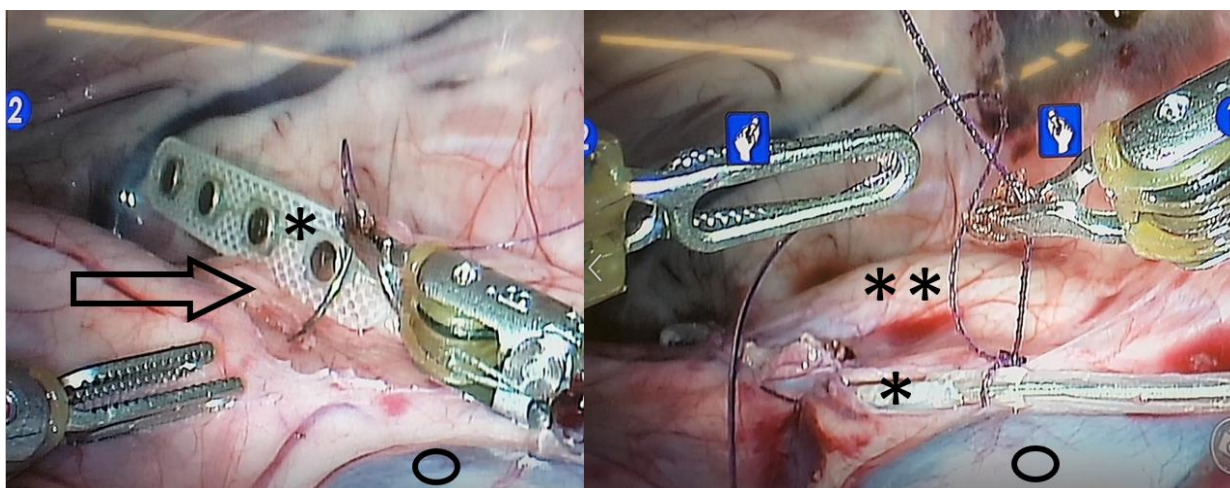
**Foto 7:** Colocação dos trocateres sendo o trocater mais superior com o fio do eletroestimulador.



A sequência de realização de lobectomia foi como na cirurgia aberta, com colocação do eletrodo e início de eletroestimulação vagal antes de iniciar a ressecção pulmonar, seguido de dissecação separadamente das estruturas e secção com grameador. A retirada da peça foi feita por uma incisão de 4 cm em região axilar por *endobag*. Drenagem da cavidade com dreno torácico nº 22. Após toracorrafia, retirado coxim axilar e o animal foi recolocado em decúbito dorsal novamente para monitoramento intensivo por 24h.

### Posicionamento dos eletrodos

Em ambos os grupos, convencional e robótica, no início do ato operatório foi realizada dissecação do nervo vago na região mediastinal acima da veia ázigos, com instalação dos eletrodos para eletroestimulação. Um estímulo foi realizado antes do início da ressecção pulmonar e mantido continuamente por 24 h. Nós padronizamos para a pesquisa que a eletroestimulação vagal seja feita de modo contínuo por 24 h para contemplar todo o período de pós-operatório imediato de uma cirurgia torácica (foto 8). No grupo Sham foi dissecado o nervo vago, implantado um eletrodo, porém sem o uso de estimulação.



**Foto 8:** Eletrodo implantado através de cirurgia robótica: \*Eletrodo, \*\*Aorta descendente, Seta: Nervo Vago, Círculo: Veia ázigos.

## **Eletroestimulação**

Configuração determinada para estimulação nos parâmetros de 3,5 mA 5 Hz iniciada durante o ato operatório, antes da ressecção pulmonar e mantida continuamente por 24 h.

## **Avaliação de funcionalidade da eletroestimulação**

No momento de início do estímulo do eletrodo, observamos em todos os animais alterações na frequência cardíaca. Após o término das 24 h de experimento aumentamos a voltagem no nível máximo do eletroestimulador para avaliar alterações na FC com o objetivo de conferir posicionamento do eletrodo e conseqüentemente sua eficácia.

No grupo toracotomia, após início do estímulo antes de iniciar a dissecação cirúrgica, utilizamos um multímetro digital Multilaser<sup>®</sup>, China (aparelho para realizar a medida elétrica da voltagem) no nervo vago com objetivo de conferir a voltagem utilizada.

No grupo Robótica devido à impossibilidade de utilizar o multímetro, avaliamos no momento da instalação do eletrodo, a queda da frequência cardíaca com aumento da voltagem da eletroestimulação, determinando a exata localização sob o nervo vago.

No grupo toracotomia que utilizamos o multímetro no início da cirurgia, em todos eles a amperagem estava de acordo com o pré-estabelecido.

O grupo cirurgia robótica por se tratar de cirurgia feita com auxílio de trocateres, não conseguimos conferir voltagem com o uso do multímetro.

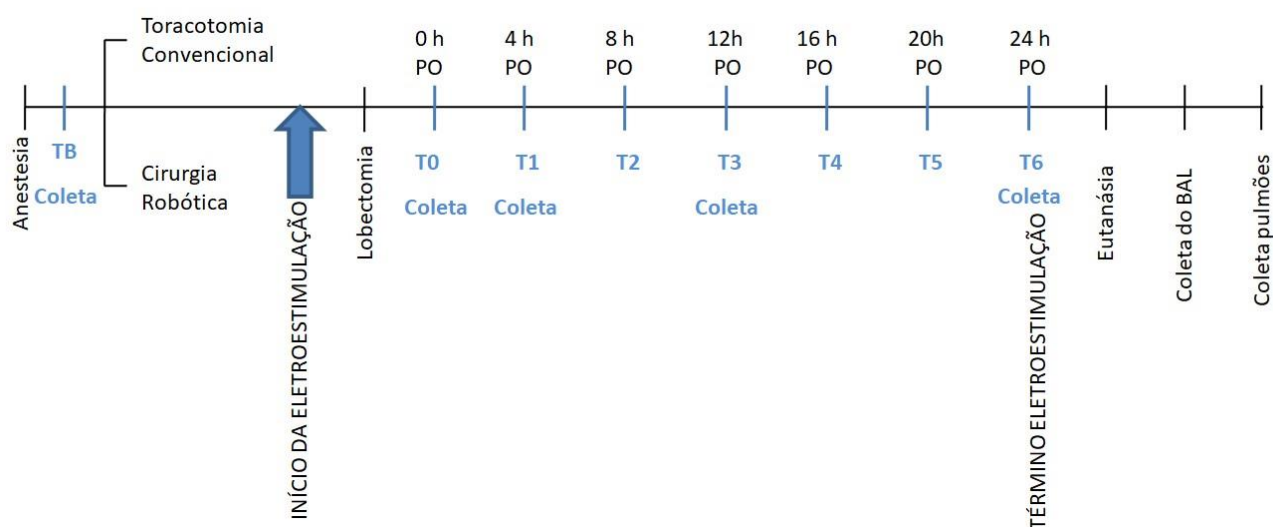
Todos os grupos utilizamos o teste final com aumento da voltagem para nível máximo, causando bradicardia intensa e inferindo o posicionamento correto do eletrodo.

### **Mensurações e coleta de amostras de plasma**

Ao início da cirurgia coletamos amostra de sangue para análise basal (TB) de todos os parâmetros laboratoriais. Ao término da resseção, imediatamente após o fechamento da parede torácica, coletamos novamente sangue que será determinado como PO imediato(T0) e de 4/4 horas até completar 24 horas (T6). Para realização das análises das citocinas foram utilizados os tempos TB, T0, T1, T3 e T6.

Durante todo o experimento coletamos dados dos parâmetros hemodinâmico dos animais, tais como: frequência cardíaca, pressão arterial, pressão venosa central, débito cardíaco, saturação venosa de O<sub>2</sub>, temperatura corporal (através do cateter de Swan Ganz) e débito urinário, todos foram monitorados continuamente por 24 h e anotados os resultados 4/4 h e o débito urinário no final do experimento.

### **Desenho Experimental**



**Gráfico 1: Linha do tempo do desenho experimental:** TB: tempo basal, T0: tempo imediatamente após o término da cirurgia, T1: 4h PO, T3: 12h PO, T6: 24h PO, BAL: lavado broncoalveolar, PO: pós-operatório, h: horas.

## 5.2 Avaliações fisiológicas, marcadores inflamatórios e histopatológicos

### Avaliações fisiológicas

Os parâmetros fisiológicos dos animais, tais como: frequência cardíaca, pressão arterial, pressão venosa central, débito cardíaco, saturação venosa de  $O_2$ , temperatura corporal (através do cateter de Swan Ganz) e débito urinário, todos foram analisados e comparados entre os grupos pré-determinados.

### Mediadores inflamatórios circulantes

Dez ml de sangue periférico foram coletados a cada 4 horas em tubos com anticoagulante EDTA. As amostras foram imediatamente armazenadas em gelo e centrifugadas por 2.500 xg por 10 minutos à 4°C. O plasma foi separado da série vermelha e armazenado em freezer -80°C para análises laboratoriais posteriores.

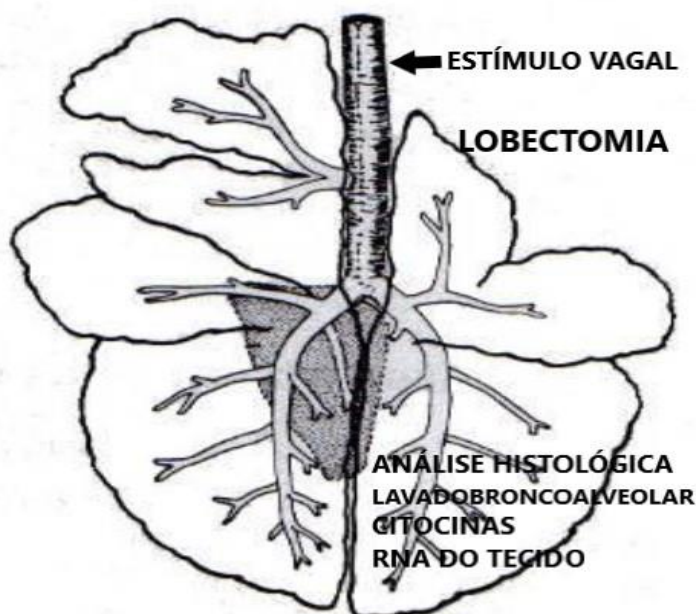
Nas amostras coletas no projeto principal, foi feita a quantificação de diferentes mediadores inflamatórios (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18, TNF- $\alpha$ , IFN $\gamma$  e GM-CSF) por um sistema multiplex. O sistema de análise múltipla da tecnologia xMAP (Luminex) utiliza beads magnéticas sobre as quais ocorre a ligação antígeno-anticorpo (Millipore #PCYTMAG-23K-13PX) utilizando anticorpos específicos para porcos.

### **Avaliação Lavado Broncoalveolar**

Ao final de cada experimento, foi feito um lavado broncoalveolar (BAL) guiado por visão endoscópica no lobo inferior do pulmão esquerdo com auxílio de uma sonda. Foram feitas 3 instilações com alíquotas de 20 mL de salina (NaCl 0.9%). O BAL foi centrifugado por 2500 xg por 10 min. O sobrenadante livre de células foi armazenado em -80°C para posterior análise de proteínas (Bradford) e quantificação de citocinas (descrito abaixo).

### **Avaliação de citocinas dos pulmões**

Após a coleta do lavado broncoalveolar, os pulmões foram inflados com 25cm H<sub>2</sub>O de ar, e após fechamento dos brônquios, os pulmões foram excisados insuflados para avaliação das citocinas pró e anti-inflamatórias nos fragmentos pulmonares. Um desenho experimental ilustrativo de como os pulmões serão avaliados é apresentado na Figura 4 e descrito nos itens a seguir.



**Figura 4** – Modelo pulmonar de Coleta das amostras. Representação esquemática dos lobos pulmonares direito e esquerdo que serão destinados a diferentes metodologias laboratoriais para avaliação da resposta inflamatória. O lavado broncoalveolar do lobo inferior esquerdo também será coletado.

### Avaliação histológica

O lobo inferior esquerdo insuflado foi fixado em formol tamponado para confecção de lâminas de hematoxilina-eosina provenientes de diferentes regiões deste lobo pulmonar. A presença de uma eventual lesão pulmonar foi feita por análise histomorfométrica em microscópio óptico convencional acoplado a retículo de 100 pontos e 50 retas onde serão avaliados edema parenquimatoso e intra-alveolar, infiltrado inflamatório e fibrose.

## **Mediadores inflamatórios no tecido pulmonar**

Fragmentos do lobo esquerdo inferior foram removidos, congelados imediatamente em nitrogênio líquido e armazenado em freezer -80°C. Um fragmento do tecido (100 mg) foi submetido a extração de proteínas através de homogeneização do tecido em 1 ml de PBS Tween 0,05% contendo inibidores de proteases (Roche #11836153001). A suspensão foi centrifugada 2 vezes por 10 min à 4°C, sendo a primeira centrifugação à 3.000 x g e a segunda à 10.000 x g. A quantidade de proteína total foi estimada no sobrenadante por Bradford.

No extrato de proteínas total foram detectados e quantificados diferentes mediadores inflamatórios por um sistema Luminex, conforme descrito acima. Foram avaliadas simultaneamente as proteínas: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18, TNF- $\alpha$ , IFN $\gamma$  e GM-CSF.

### **Análises histológicas, lavado broncoalveolar, citocinas do plasma e tecido pulmonar**

Todas as análises foram realizadas no Laboratório do Instituto de Ensino e Pesquisa do Hospital Sírio Libanês.

#### **Mortalidade**

Definimos que quando o óbito ocorresse após 20 h de experimento, o animal seria utilizado e os que ocorressem antes seriam descartados.

### **5.3 Análise Estatística**

Todos os dados deste estudo foram coletados através de formulários desenhados no software Excel através da confecção de planilha de banco de dados. Apenas os pesquisadores tiveram acesso aos resultados.

### **Estatística descritiva**

As análises descritivas para os dados quantitativos foram realizadas apresentando as médias acompanhadas dos respectivos desvios padrão (+dp). Os pressupostos da distribuição normal em cada grupo e a homogeneidade das variâncias entre os grupos foram avaliados respectivamente, com o teste de Shapiro-Wilk e com o teste de Levene.

As variáveis categóricas foram expressas através de suas frequências e porcentagens.

### **Estatística inferencial**

As variáveis quantitativas, onde foram analisados três fatores (Cirurgia, Estímulo e tempo), foi utilizada a Análise de Variância de Três Fatores de medidas repetidas para um único fator (Tempo). Para as variáveis quantitativas, onde foram analisados dois fatores (Cirurgia e Estímulo), foi utilizada a Análise de Variância de Duplo Fator.

Quando foi necessária a realização de comparações múltiplas de médias, foi utilizado o teste de Bonferroni.

Para comparação de proporções, recorreu-se aos testes de Qui Quadrado ou exato de Fisher quando foi necessário.

Para avaliação de sobrevida dos animais, foi utilizada a curva de Kaplan Meier e para as comparações das curvas foi utilizado o teste de Log-rank.

Todas as análises foram realizadas no software SPSS 21 para Windows com nível de significância de  $\alpha=0,05$ .



## ***6 Resultados***

---

Todas as análises foram realizadas de forma aberta, os avaliadores não foram cegados em nenhuma das avaliações.

### **6.1 Funcionalidade do eletrodo**

No momento de início do estímulo, observamos que em todos os animais foram estimulados uma diminuição da FC em torno de 20% do valor basal, com recuperação imediata da FC para os valores basais.

### **6.2 Resultados Mortalidade**

Houve mortalidade no Grupo Toracotomia Sham, ocorrendo 3 óbitos. Somente um animal foi utilizado, pois o óbito ocorreu com 21 h de experimento, os outros dois animais morreram antes das 20 h de experimento, portanto foram descartados. No grupo Robótica Sham apenas um animal morreu de arritmia irreversível com 22 h de experimento, sendo utilizado no estudo

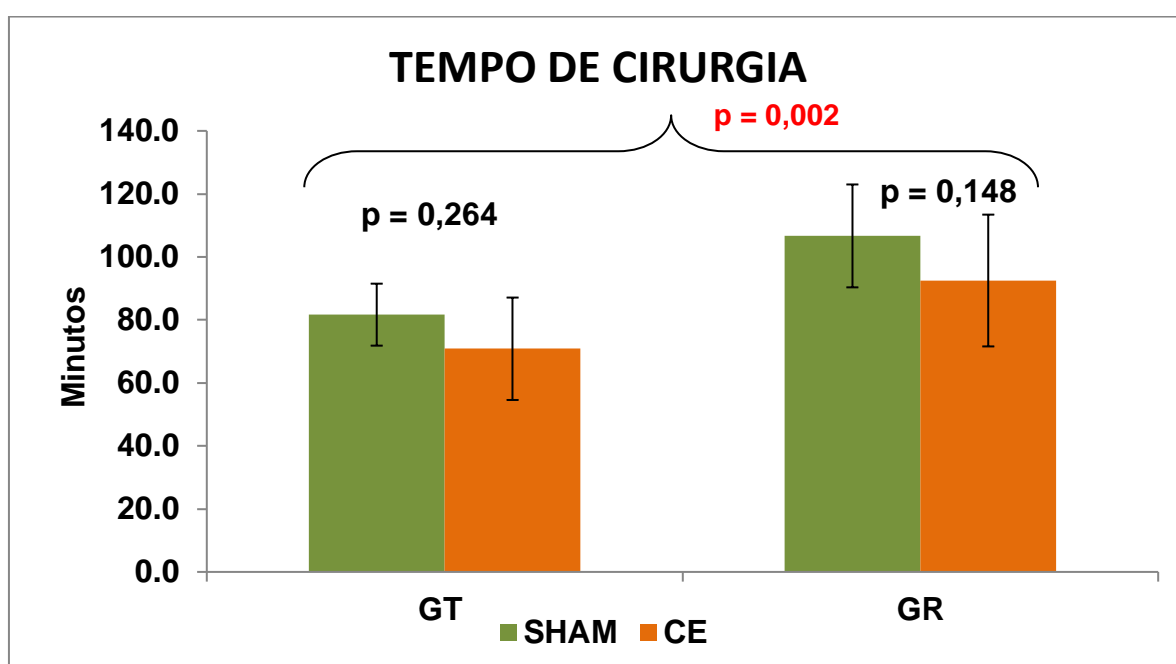
Não houve diferença estatística de mortalidade entre os grupos analisados.

A *causa mortis* foi por arritmia cardíaca (fibrilação atrial) irreversível identificada ao monitor do ECG contínuo. Todos os animais foram submetidos à necropsia imediatamente após o óbito e em nenhum deles encontramos uma causa de complicação cirúrgica como hemotórax ou alguma lesão despercebida cardiopulmonar.

### 6.3 Tempo de cirurgia

O tempo de cirurgia entre os grupos foram comparados da seguinte forma: Grupo Toracotomia (EV e Sham) e Grupo Robótica (EV e Sham), tempo de cirurgia comparando Grupo Toracotomia com Grupo Robótica mostrado no quadro abaixo:

**Tabela 2:** Tempo de cirurgia 1: GT: Grupo Toracotomia (média: 76,3 min  $\pm$ 14,00) GR: Grupo Robótica (média: 99,6 min  $\pm$ 19,36), GT x GR = p =0,002



As cirurgias no Grupo toracotomia foram realizadas em menor tempo em comparação com o Grupo Robótica com P=0,002, com média de 76,3 minutos para o Grupo Toracotomia e 99,6 minutos para o Grupo Robótica.

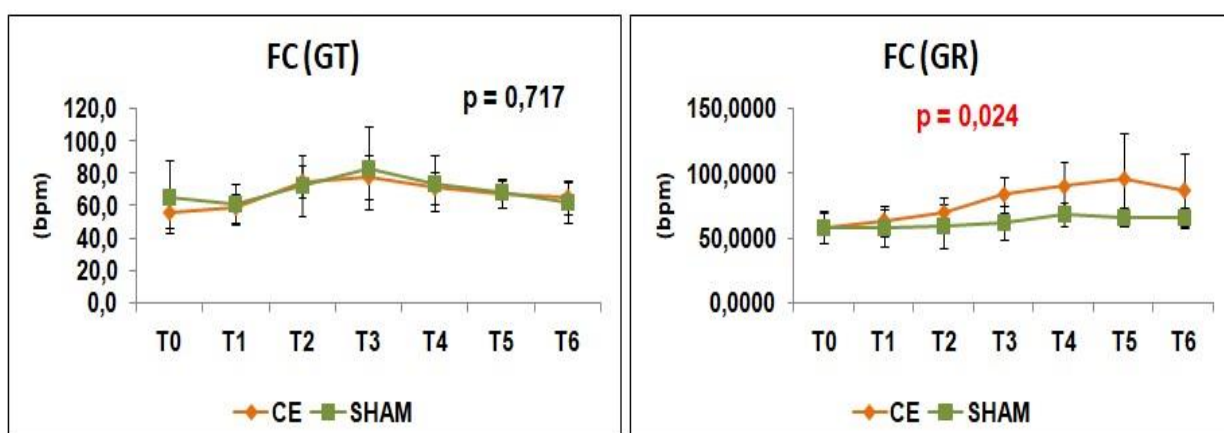
Quando comparadas os Grupos Toracotomia CE e Toracotomia Sham e Grupo Robótica CE e Robótica Sham, não houve diferença significativa entre o tempo de cirurgia.

#### 6.4 Resultados de dados clínicos e hemodinâmicos

Os parâmetros e dados clínicos analisados foram frequência cardíaca (FC), pressão arterial, pressão arterial média, saturação de oxigênio, temperatura central, pressão média de artéria pulmonar, pressão de artéria pulmonar, débito cardíaco, débito urinário.

Nossos resultados referentes às variáveis descritas acima estão mostrados nos anexos.

Houve diferença estatística somente no grupo Robótica com relação à variável Frequência cardíaca, em que o Grupo Robótica com Estímulo Vagal apresentou níveis de frequência cardíaca mais elevadas quando comparados com o Grupo Robótica Sham, com  $P=0,024$ , mostrado abaixo:



**Gráfico 2:** Frequência cardíaca no Grupo Toracotomia e Grupo Robótica

## 6.5 Resultados complicações clínicas

As complicações ocorridas nos animais e avaliadas foram fibrilação atrial e ventricular, bradicardia refratária a uso de duas ou menos doses de atropina e persistente ocasionando um bloqueio átrio ventricular de 2º grau, choque cardiogênico com necessidade de uso de noradrenalina para manter níveis pressóricos, parada cardiorespiratória e óbito.

Consideramos o animal apto para inclusão no estudo caso o óbito ocorresse após 20 horas de experimento.

A bradicardia persistente foi definida com frequência cardíaca menor que 40 com a utilização de mais 4 ampolas de atropina em 24 h e quando a mesma em mais de dois episódios causasse um bloqueio átrio ventricular (BAV) de 2º grau.

O choque cardiogênico definido como pressão arterial média menor que 60 refratária ao uso de epinefrina em mais de 2 ocasiões.

Fibrilação atrial e ventricular era avaliada e diagnosticada diretamente no monitor com eletrocardiografia e utilização de drogas antiarrítmicas e quando necessário uso de desfibrilador.

As complicações pulmonares foram definidas como dessaturação persistente por mais de 1 hora, com necessidade de uso de parâmetros máximos na ventilação mecânica (VM) por mais de 4 horas, com pressão inspiratória maior que 20 cm H<sub>2</sub>O, fração inspirada de oxigênio (FIO<sub>2</sub>) de 100% como tentativa de manter uma saturação de oxigênio (Sat O<sub>2</sub>) maior que 94%. A hipercapnia persistente por mais de 30 min contínuos observados na gasometria arterial e fração expirada de CO<sub>2</sub> (ETCO<sub>2</sub>) maior que 50, medidas na capnografia, com necessidade de aumentar a frequência respiratória na VM maior que 20 e alteração na relação na frequência inspiração / expiração maior que 1:3.

As complicações estão listadas nas tabelas abaixo:

**Tabela 3 complicações globais:** \* valor de p quando comparados grupo Toracotomia x Robótica independente do estímulo

\*\* valor de p quando comparado CE x Sham independente de cirurgia

	Toracotomia CE n=6	Toracotomia Sham n=6	Robótica CE n=6	Robótica Sham n=6	P GT x GR*	P CE x Sham**
<b>Dessaturação</b>						
Sim	0	5	0	1	0,155	0,014
<b>Hipercapnia</b>						
Sim	1	5	1	3	0,488	0,021
<b>Fibrilação atrial e ventricular</b>						
Sim	0	3	0	0	0,217	0,217
<b>Bradicardia / BAV 2º grau</b>						
Sim	0	5	0	1	0,155	0,014
<b>Choque Cardiogênico</b>						
Sim	1	3	0	1	0,317	0,317
<b>PCR</b>						
Sim	0	1	0	1	>0,999	0,478
<b>Complicações totais</b>						
Sim	2	6	1	4	0,219	0,004

Quando analisados comparativamente os grupos Toracotomia e Robótica, ocorreram mais complicações gerais no grupo Toracotomia (66,7%), e no grupo robótica 41,6%.

A hipotensão no grupo robótica que se iniciou no período intraoperatório durante a confecção do pneumotórax, persistindo durante a cirurgia e sendo desligada a noradrenalina após não foi considerada como complicação cirúrgica, mas sim inerente ao procedimento. Somente um caso o choque cardiogênico se

iniciou após 20 h de cirurgia sendo atribuído à resposta neuroendócrina à cirurgia, e não ao pneumotórax.

Quando analisados CE x Sham independente do tipo de cirurgia encontramos mais complicações no grupo Sham com significância estatística em: dessaturação ( $p=0,014$ ), hipercapnia ( $p=0,021$ ), bradicardia / BAV 2º grau ( $p=0,014$ ) e no taxa total de complicações ( $p=0,04$ ),

**Tabela 4:** Complicações Grupo Toracotomia

<b>ESTÍMULO X COMPLICAÇÕES CLÍNICAS (GRUPO TORACOTOMIA)</b>			
	<b>CE n=6</b>	<b>Sham n=6</b>	<b>p</b>
<b><u>Dessaturação</u></b>			
Sim	0	5 (83,3%)	0,015*
<b><u>Hipercapnia</u></b>			
Sim	1	5 (83,3%)	0,080
<b><u>Fibrilação Atrial e Ventricular</u></b>			
Sim	0	3 (50%)	0,182
<b><u>Bradicardia / BAV de 2º grau</u></b>			
Sim	0	5 (83,3%)	0,015*
<b><u>Choque cardiogênico</u></b>			
Sim	1 ( 16,7%)	3 (50%)	0,545
<b><u>PCR</u></b>			
Sim	0	1 (16,7%)	> 0,999
<b><u>Complicações</u></b>			
Sim	2 (33,3%)	6 (100%)	0,061

As complicações foram identificadas no grupo Toracotomia sendo a dessaturação ( $P = 0,015$ ), bradicardia cursando com BAV 2º ( $P = 0,015$ ) e chamando a atenção a hipercapnia ( $P = 0,08$ ) que apesar de não haver

relevância estatística ocorreu em 83,3% dos casos do grupo Toracotomia sem estímulo.

A avaliação estatística global de complicações teve um valor  $P = 0,061$ , porém nota-se que 100 % dos animais não estimulados ocorreu algum tipo de complicação.

**Tabela 5:** Complicações Grupo Robótica

<b>ESTÍMULO X COMPLICAÇÕES CLÍNICAS (GRUPO ROBÓTICA)</b>			
	<b>CE n=6</b>	<b>Sham n=6</b>	<b>p</b>
<b><u>Dessaturação</u></b>			
Sim	0	1 (16,7%)	> 0,999
<b><u>Hipercapnia</u></b>			
Sim	1 (16,7%)	3 (50%)	0,545
<b>Fibrilação Atrial e Ventricular</b>			
Sim	0	1 (16,7%)	>0,999
<b><u>Bradicardia / BAV de 2º grau</u></b>			
Sim	0	1 (16,7%)	>0,999
<b><u>Choque cardiogênico</u></b>			
Sim	0	1(16,7%)	>0,999
<b>PCR</b>			
Sim	0	1 (16,7%)	> 0,999
<b>Complicações</b>			
Sim	1 (16,7%)	4(66,7%)	0,242

As análises do grupo Robótica não mostraram significância estatística entre os parâmetros analisados.

## 6.6 Resultados de análises de citocinas no plasma

As listas contendo todos os painéis das citocinas e comparações nos grupos toracotomia com e sem estímulo, robótica com e sem estímulo, robótica



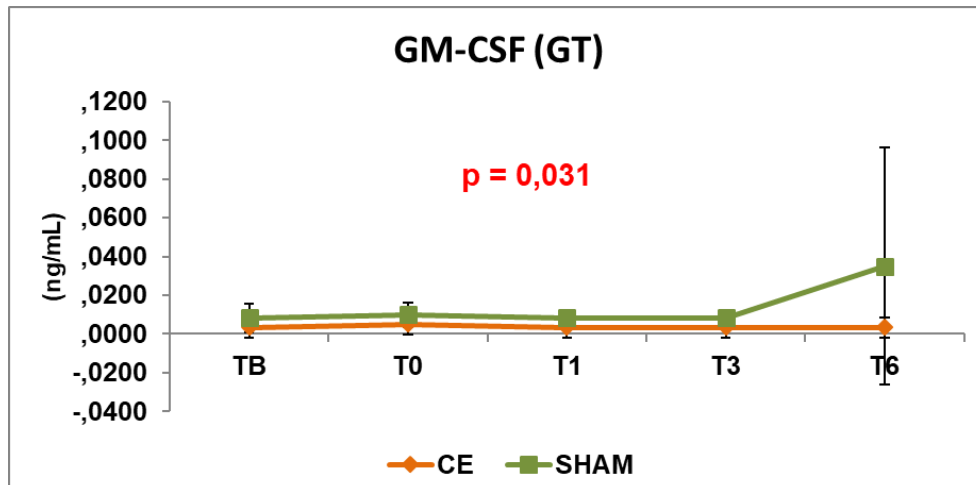
e toracotomia com estímulo e robótica e toracotomia sem estímulo vagal estão listadas nos anexos.

As citocinas com relevância estatística estão listadas abaixo:

### 1) GM-CSF

No grupo **Toracotomia CE e Toracotomia Sham** somente a GM-CSF teve relevância estatística entre os estímulos com  $P = 0,031$ , com valor aumentado ao final do experimento no grupo Toracotomia Sham.

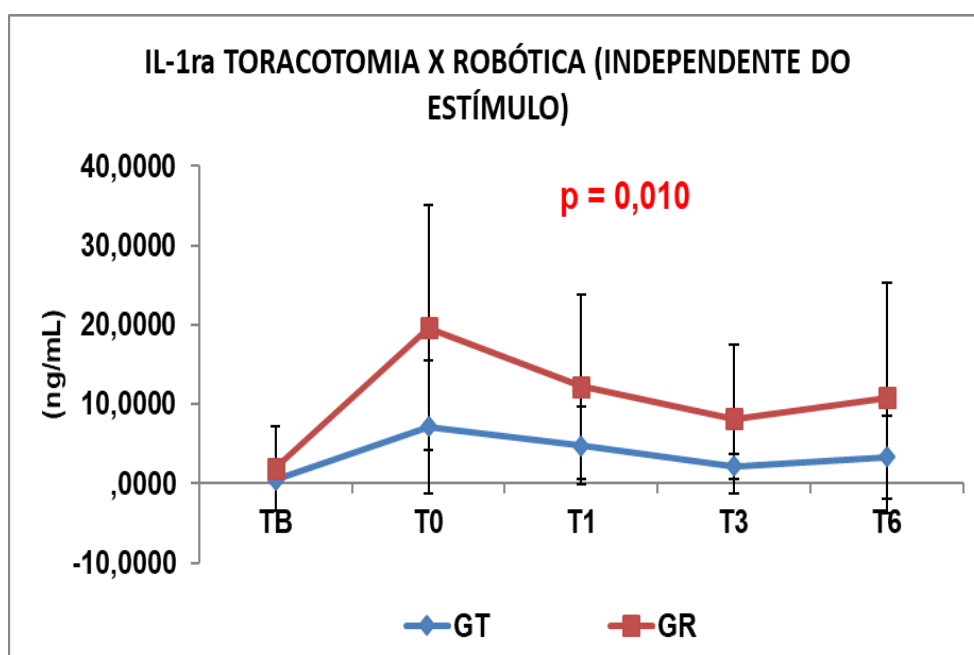
**Gráfico 4:** Comparação do GM-CSF no plasma



### 2) IL 1Ra

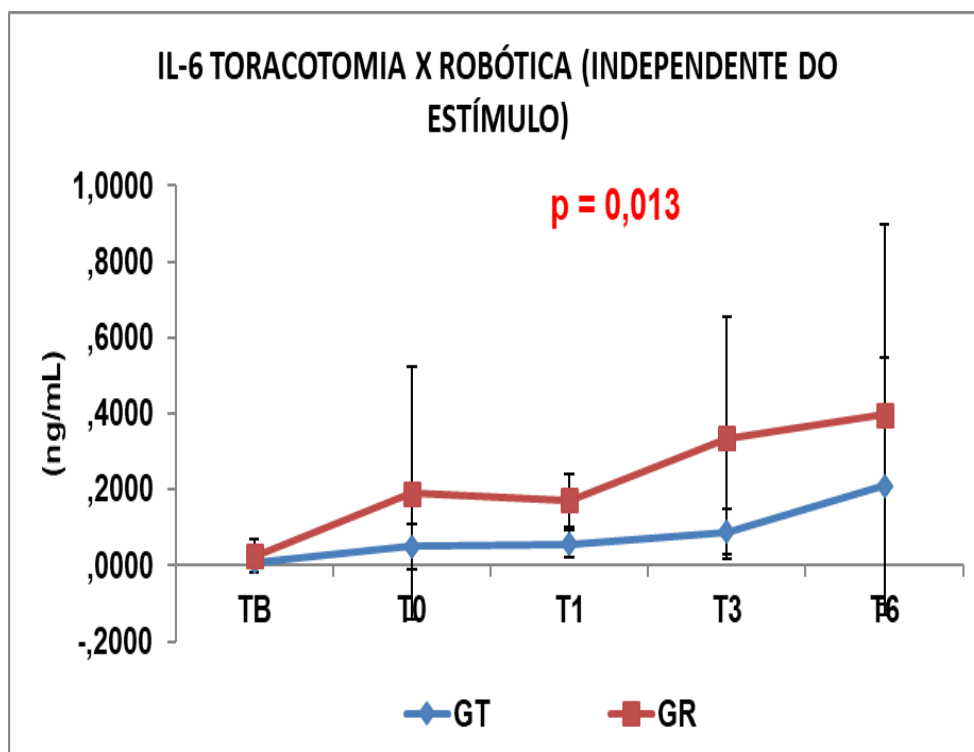
Na análise comparativa entre os grupos **Toracotomia e Robótica independente do estímulo** houve diferença significativa nas citocinas IL 1ra ( $p=0,010$ )

**Gráfico 5: Comparação IL-1Ra no plasma**



### 3) IL 6

Quando comparado grupos **Toracotomia e Robótica independente do estímulo**, a IL 6 também ocorreu diferença entre os grupos com significância estatística com  $P = 0,013$

**Gráfico 6:** Comparação IL-6 no plasma

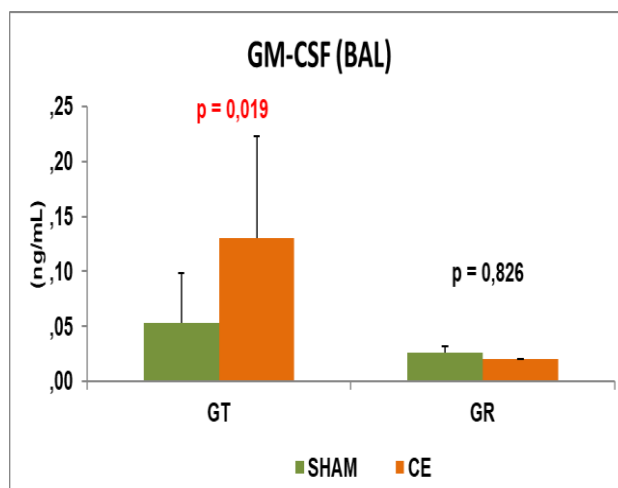
## 6.7 Resultados de análises de BAL

O painel com todos os resultados das análises do BAL encontra-se nos anexos.

As citocinas do BAL com significância estatística estão listadas abaixo:

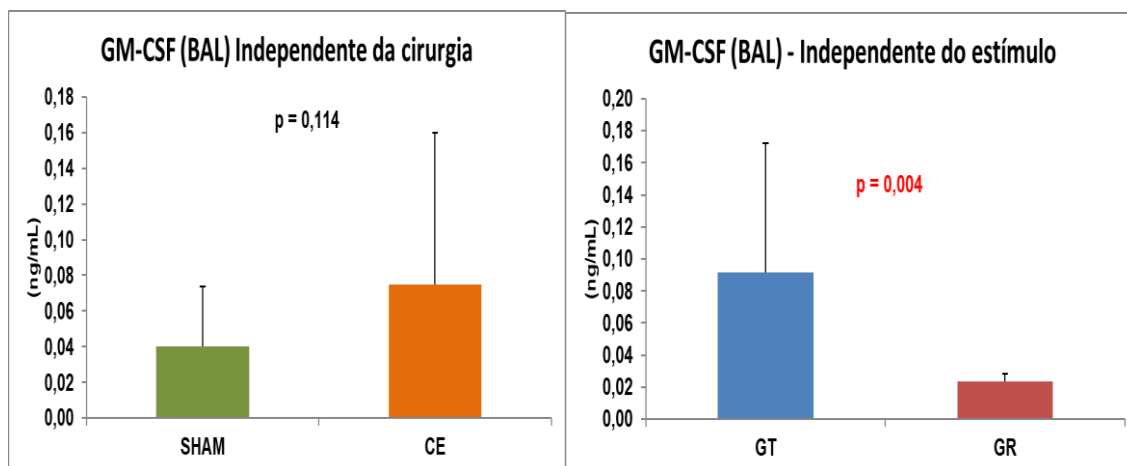
### 1) GM-CSF

**GM-CSF (P = 0,019):** houve significância estatística no grupo **Toracotomia CE** e **Toracotomia Sham**.



Quando comparamos grupo **Toracotomia com Robótica independente de estímulo** ocorreu significância estatística com  $p=0,004$ .

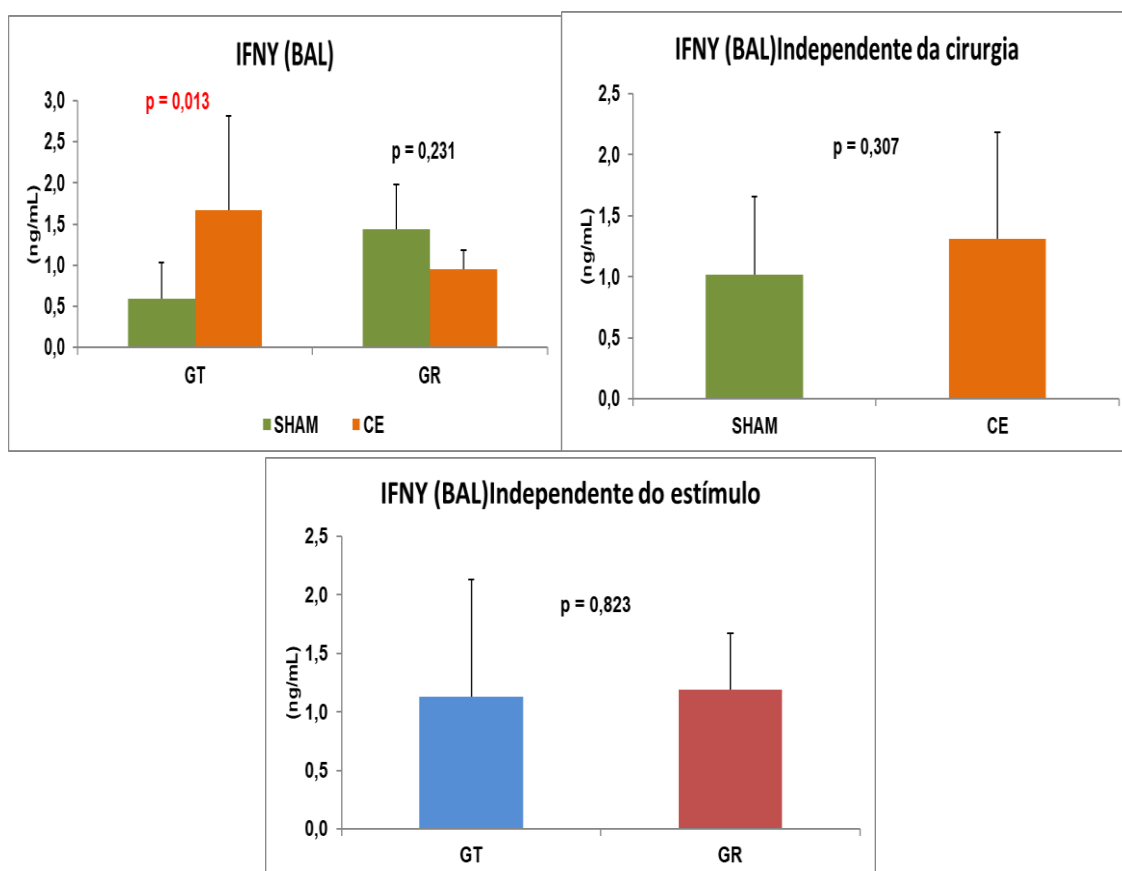
**Tabela 6:** Comparação GM-CSF BAL



## 2) IFN $\gamma$

**IFN  $\gamma$  (P= 0,013):** houve significância estatística quando comparamos os grupos **Toracotomia CE e Toracotomia Sham**.

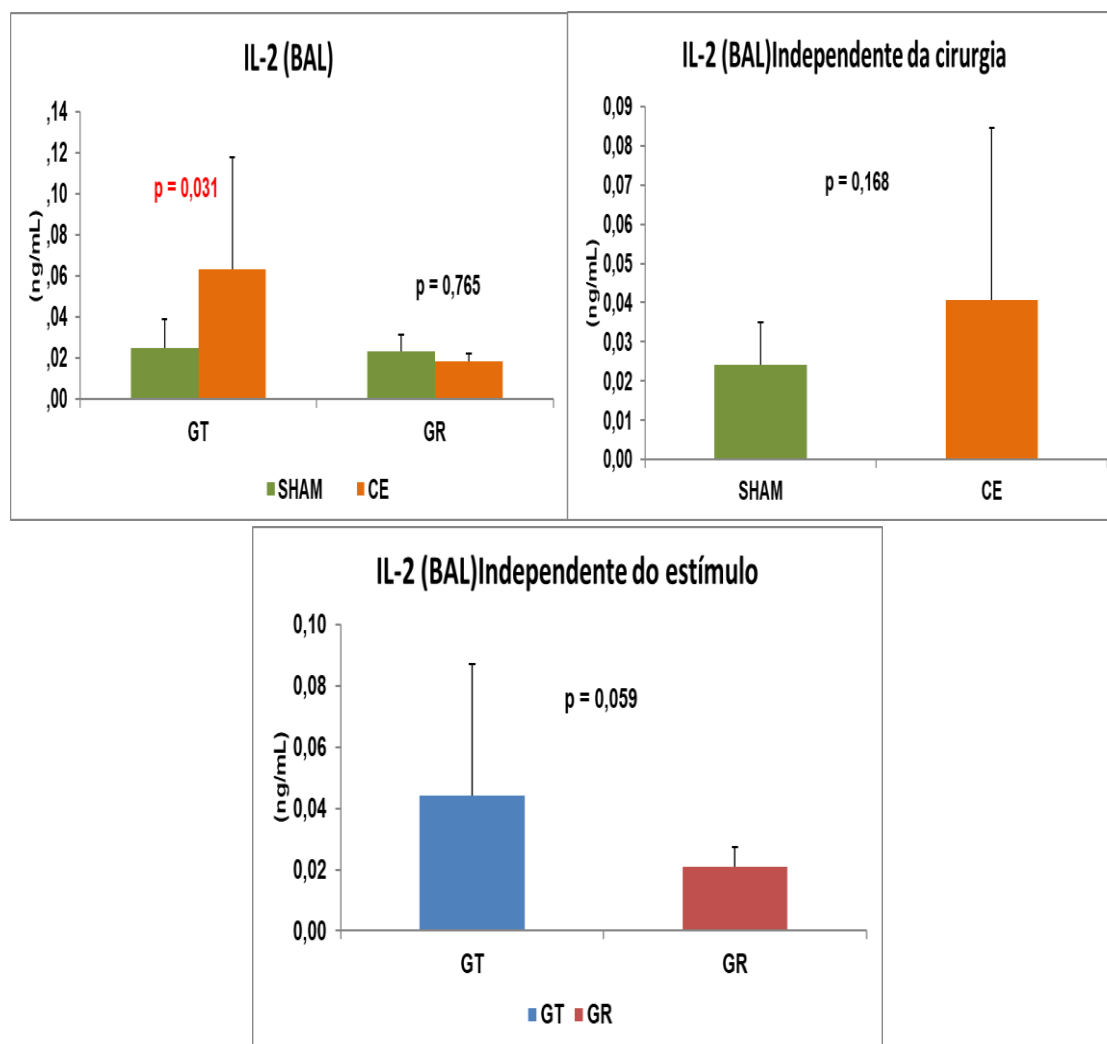
Tabela 7: Comparação IFN y BAL



### 3) IL 2

**IL 2 (P = 0,031):** houve significância estatística quando comparados os grupos **Toracotomia CE e Toracotomia Sham.**

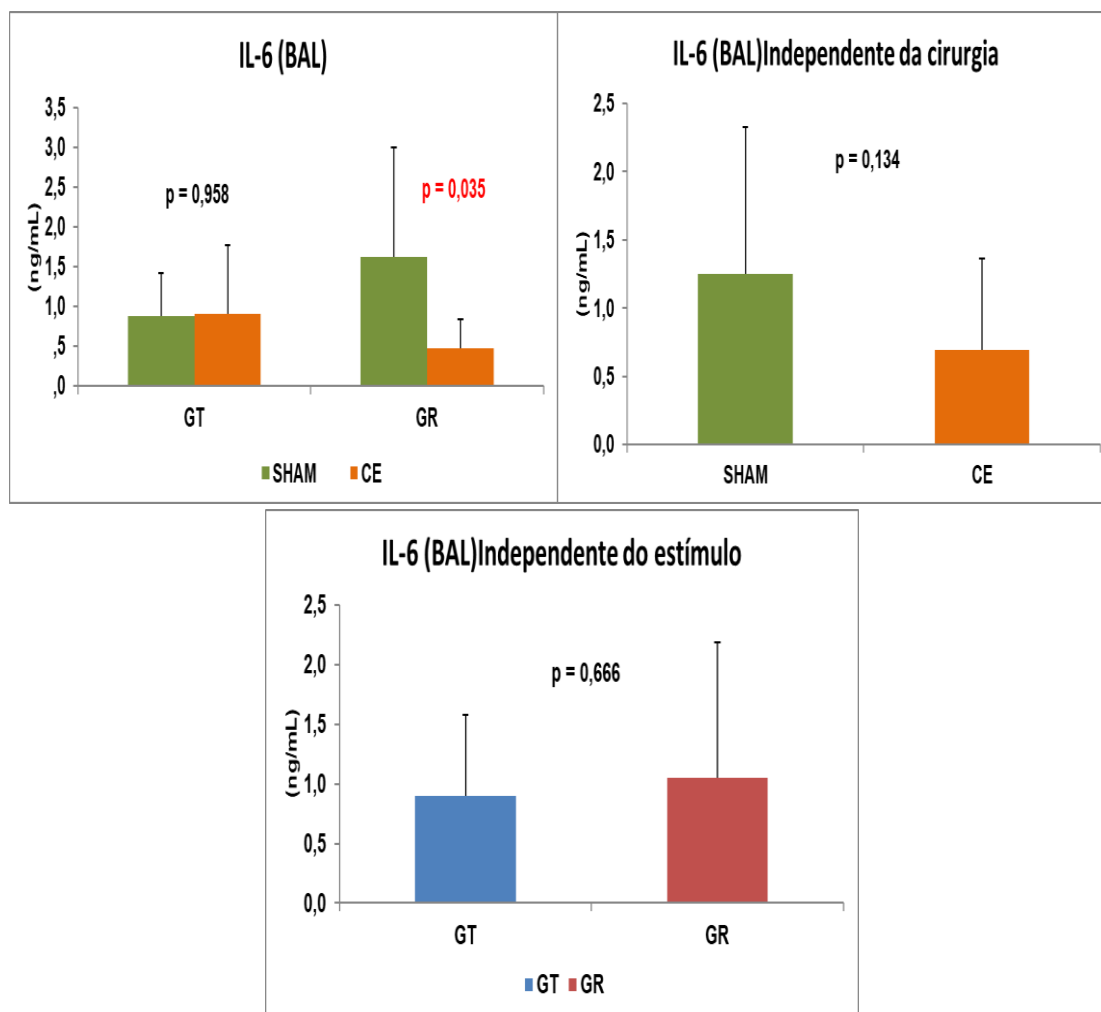
Tabela 8: Comparação IL-2 BAL



## 4) IL 6

Os grupos **Robótica CE e Robótica Sham** quando somente a **IL 6 (P = 0,035)** apresentou significância estatística.

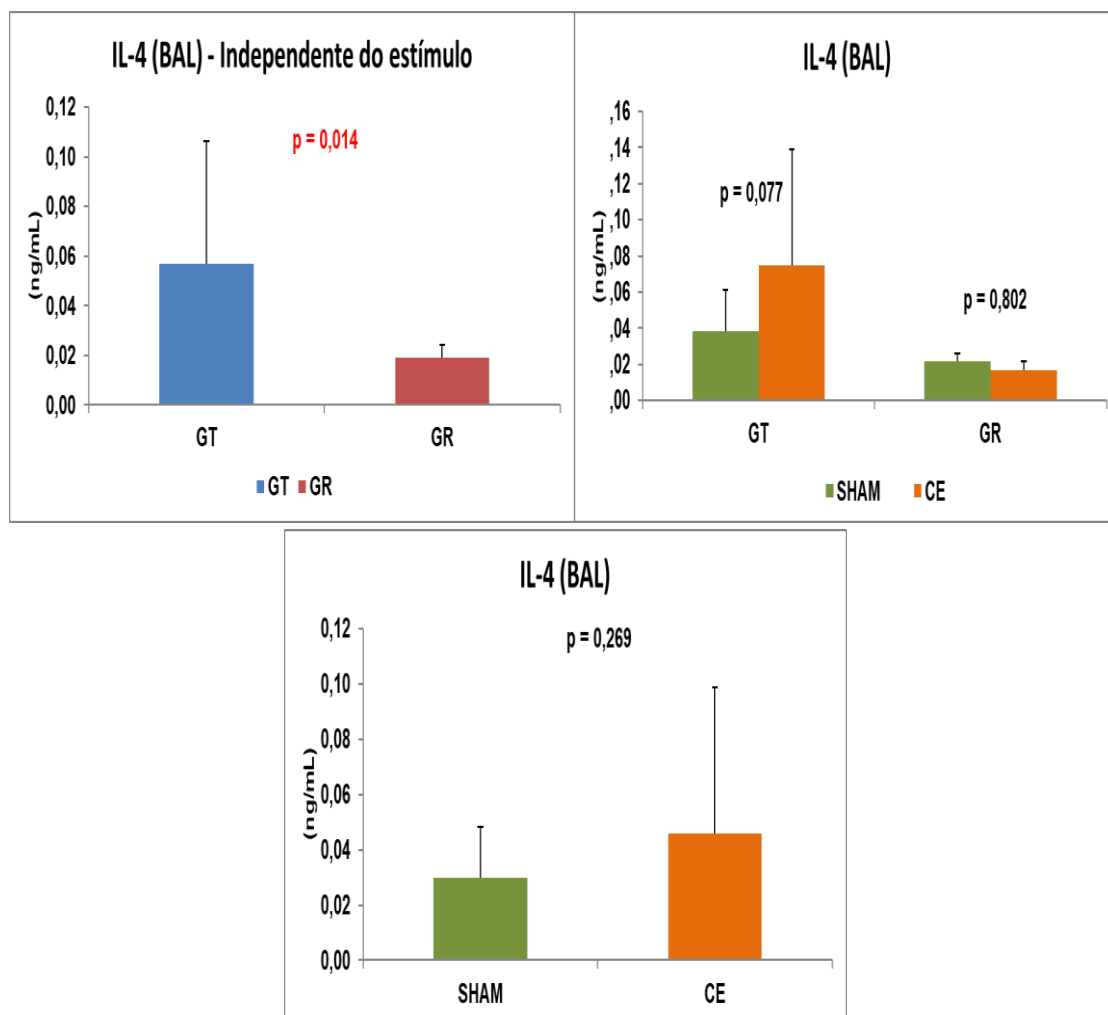
Tabela 9: Comparação IL-6 BAL



## 5) IL 4

**IL 4 (P= 0,014):** Os grupos **Toracotomia e Robótica independente do estímulo** apresentaram significância estatística

Tabela 10: Comparação IL-4 BAL



## 6.8 Resultados análise histológica do parênquima pulmonar

O parênquima pulmonar remanescente foi avaliado histologicamente com Hematoxilina e eosina sendo avaliados os seguintes parâmetros:

- Edema: quando presente ou ausente
- Inflamação: quando presente ou ausente
- Outros: presença de outros achados (fibrose, ruptura de bronquíolos e/ou vasos sanguíneos) menores na lâmina.



Foram feitas comparações padronizadas em nenhuma delas foram encontradas diferenças com significância estatística.

Vide quadro nos anexos com todas as análises comparadas. (pág. 184)

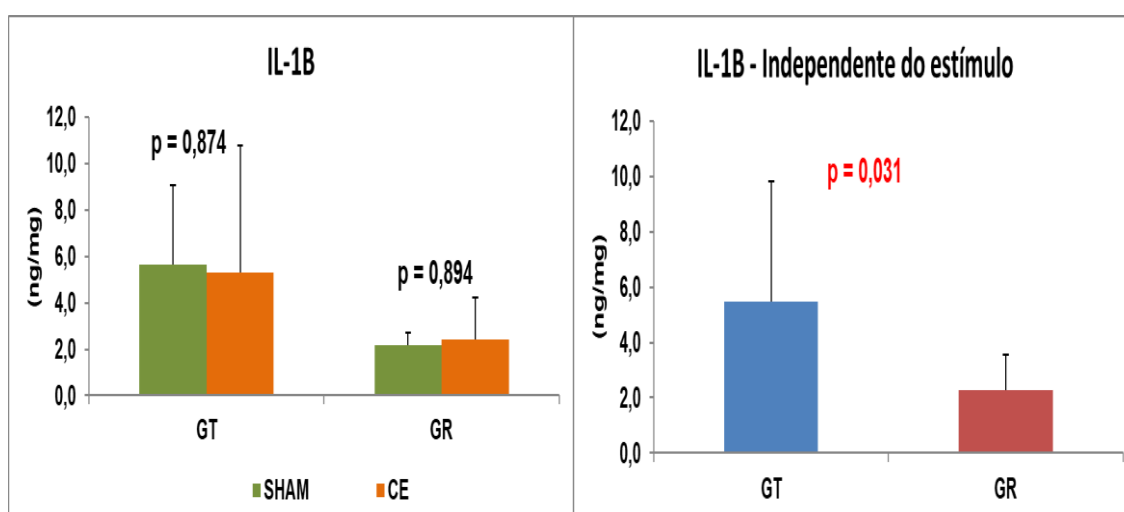
## 6.9 Resultados da quantificação de citocinas do parênquima pulmonar

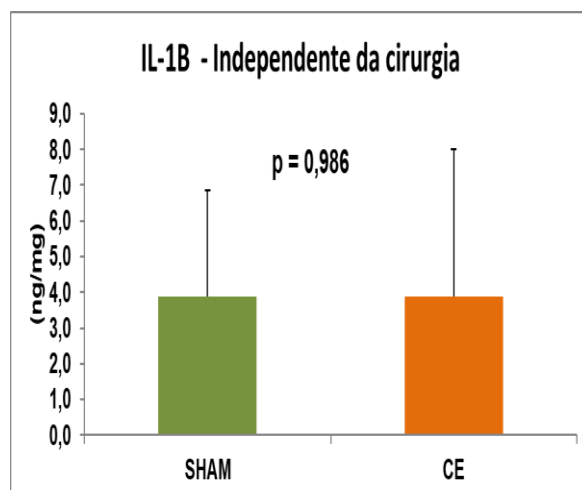
Foram realizadas análises do tecido pulmonar do lobo remanescente e avaliados os níveis de citocinas locais.

### 1) IL 1B

A IL 1B quando comparado os grupos **Toracotomia x Robótica independente do estímulo** ocorreu significância estatística com  $p=0,031$ , com o grupo toracotomia apresentando maiores níveis.

**Tabela 11:** Comparação IL-1B parênquima

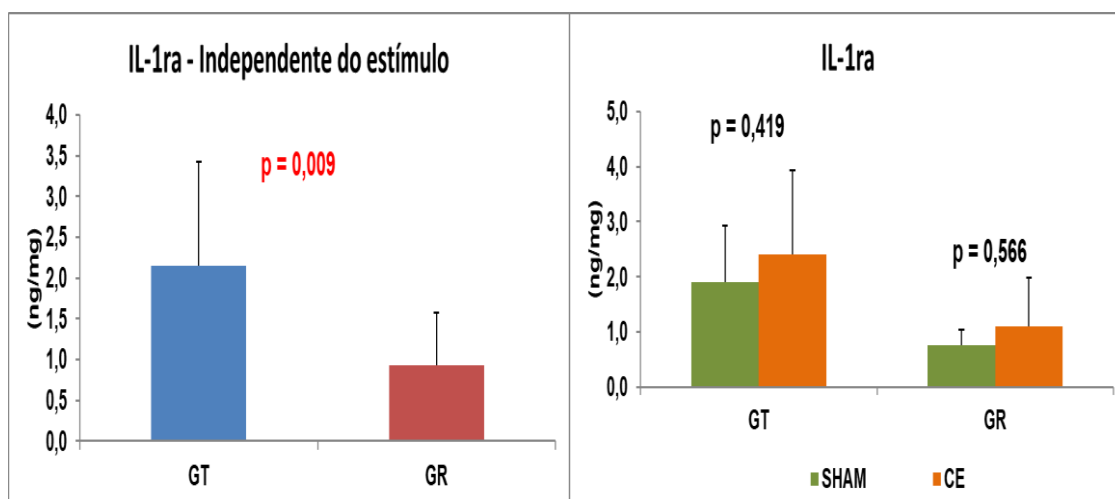


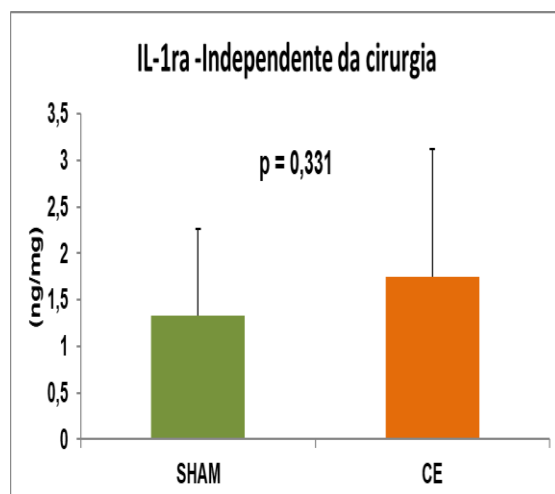


## 2) IL1ra

Apresentou significância estatística quando comparamos os **grupos Toracotomia e Robótica independente do estímulo** com  $p=0,009$ .

**Tabela 12:** Comparação IL-1Ra parênquima

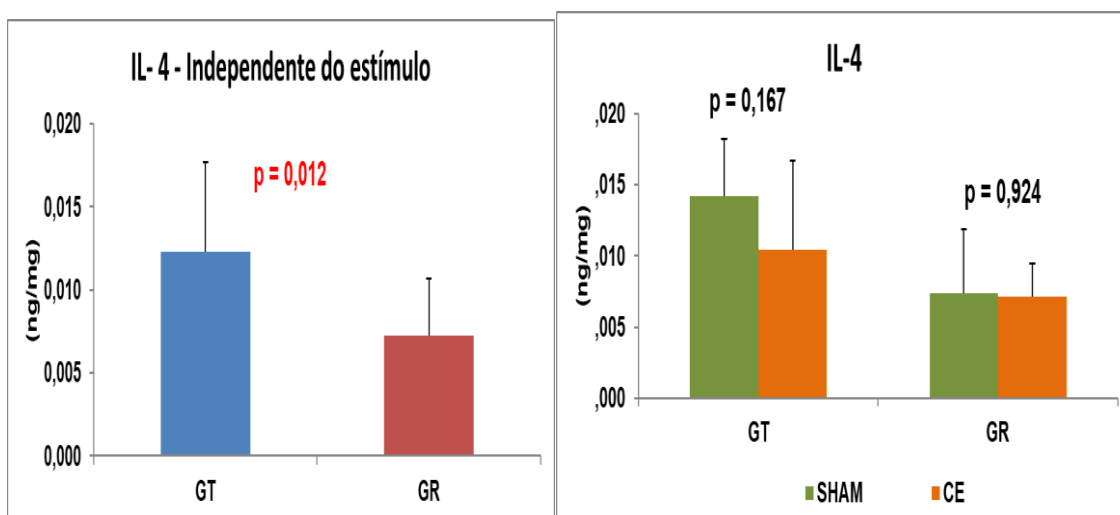


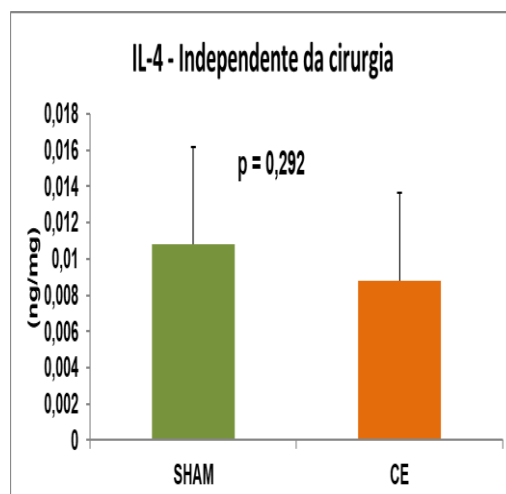


### 3) IL4

Apresentou significância estatística quando comparamos os **grupos Toracotomia e Robótica independente do estímulo**

**Tabela 13:** Comparação IL-4 parênquima

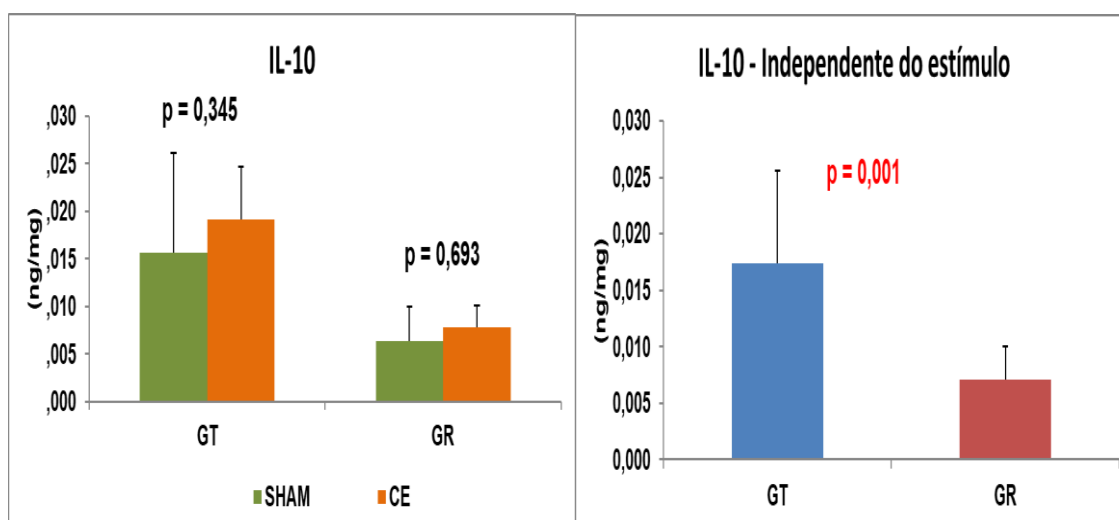


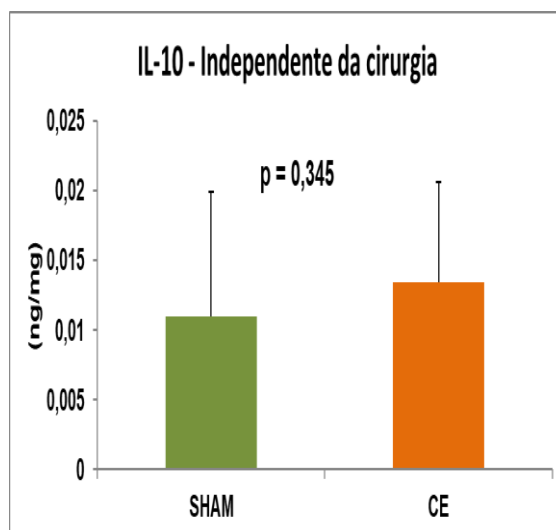


#### 4) IL 10

Apresentou significância estatística quando comparamos os **grupos Toracotomia e Robótica independente do estímulo**

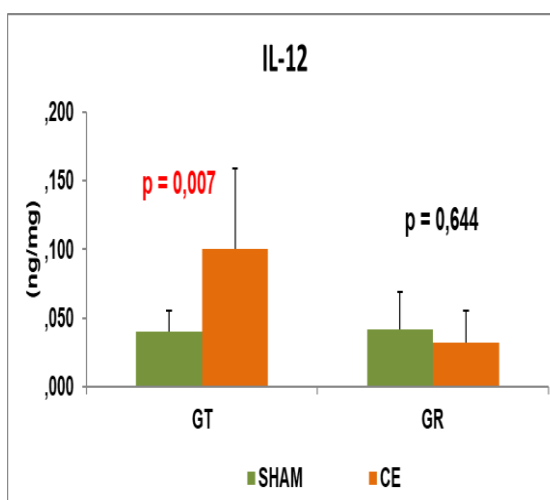
Tabela 14: Comparação IL-10 parênquima





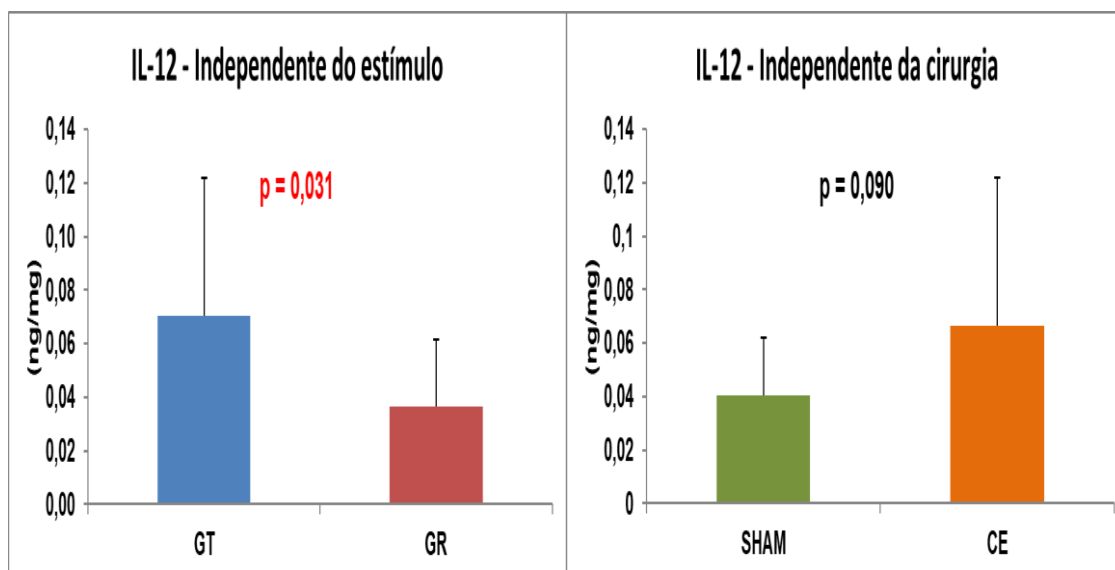
## 5) IL12

Quando foram comparados os Grupos **Toracotomia CE x Toracotomia Sham** ocorreu significância estatística conforme mostrado abaixo:



Quando comparamos **Toracotomia e Robótica independente do estímulo** ocorreu significância estatística com  $p=0,031$ .

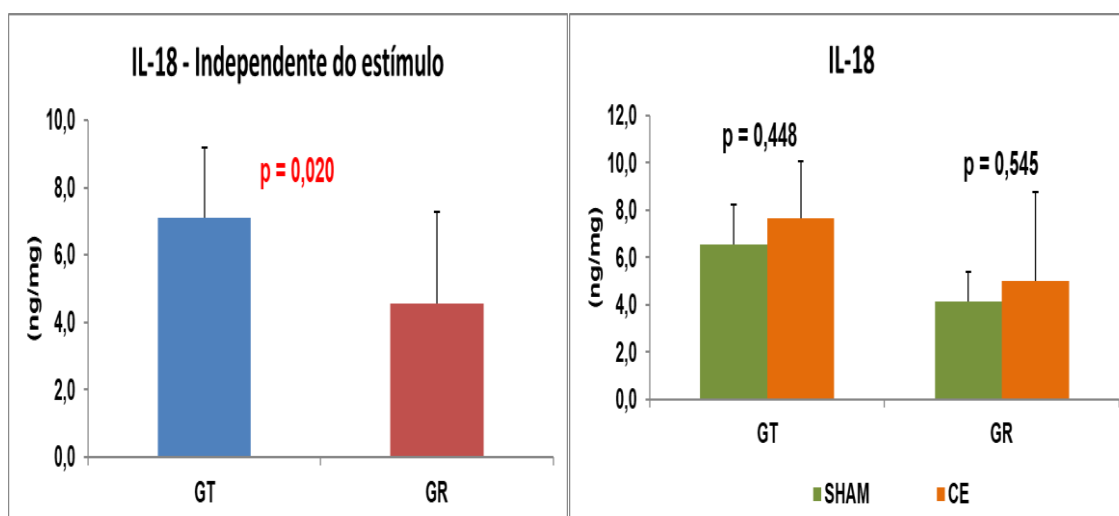
Tabela 15: Comparação IL-1Ra parênquima

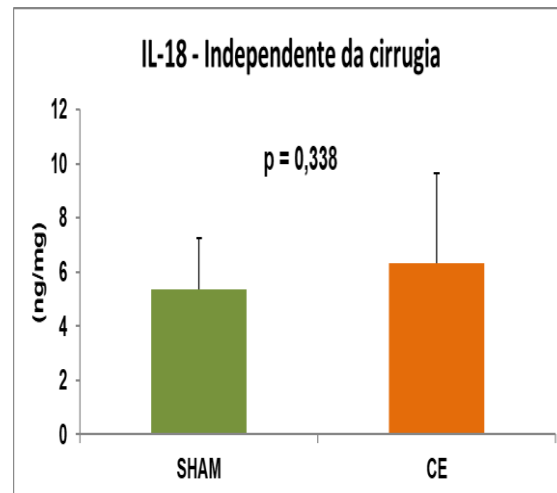


## 6) IL 18

Quando comparado **Toracotomia e Robótica independente do estímulo** ocorreu significância estatística com  $p=0,020$ .

Tabela 16: Comparação IL-1Ra parênquima





O painel com os resultados completos de todas as citocinas do parênquima pulmonar está nos Anexos.

## ***7 Discussão***

---



A importância do estudo de resposta inflamatória sistêmica pós-cirúrgicas é necessária para descobrirmos as respostas imunes inatas excessivas ou até a falha das respostas imunes adaptativa, que podem resultar na SRIS, infecção (ferida operatória, pulmonar ou trato urinário por exemplo) e sepse, em que a SRIS é causada por infecção <sup>50</sup>.

Os objetivos nas pesquisas no campo da resposta inflamatória foram com o intuito de reduzir a mortalidade por cirurgias eletivas, reduzir a morbidade por infecção, uso prolongado de antibióticos, diminuir a má nutrição, visando obter uma resposta mais rápida e um retorno completo às atividades de vida cotidiana <sup>50</sup>.

A intervenção precoce é fundamental para gerenciar e diminuir os riscos inflamatórios sistêmicos, portanto a descoberta de um biomarcador de gravidade para estratificar os doentes com antecedência pode ser útil e por outro lado, a realização de técnicas cirúrgicas menos agressivas, com menor potencial de inflamação e de pouca liberação sistêmica de citocinas inflamatórias e desses biomarcadores.

Além de cirurgia minimamente invasiva, podemos utilizar meios complementares, como por exemplo a eletroestimulação do nervo vago, para modular a liberação de citocinas pró-inflamatórias e conseqüentemente otimizar o sistema imunológico.

Utilizamos o nervo vago torácico para ativar o chamado Reflexo Inflamatório, com a inflamação local é detectada pelo ramo aferente do nervo vago, sendo transmitida para o Núcleo do trato solitário (NTS) e subseqüentemente o núcleo motor dorsal (NMD) resultando na ativação do ramo eferente do nervo vago, denominado via anti-inflamatória colinérgica <sup>51</sup>.

Apesar de existir estudo em humanos sobre a estimulação vagal, nós consideramos prudente, primeiramente iniciarmos com estudo experimental, visto que a associação estímulo vagal e ressecção pulmonar é um tema ainda novo.

Outras espécies de animais foram utilizadas em estudos experimentais, como camundongos, ratos da raça Wistar e suínos. O modelo experimental na raça mini-pig ainda não foi estudado.

Não encontramos dados na literatura sobre os efeitos da estimulação vagal na RIS relacionados à cirurgia torácica aberta e minimamente invasiva na lobectomia pulmonar.

### **7.1 Modelo experimental suíno**

Porcos domésticos estão intimamente relacionados aos seres humanos em termos de anatomia, genética e fisiologia e representam um excelente modelo animal para estudar várias doenças infecciosas microbianas. De fato, experimentos em porcos são muito mais propensos a prever tratamentos terapêuticos em humanos do que experimentos em roedores <sup>52</sup>.

Esse modelo possui várias vantagens como por exemplo : disponibilidade (uma das principais espécies produtoras de carne no mundo todo); tamanho próximo ao do humano, especialmente o porco Hanford em miniatura; possibilidade de realizar vários procedimentos cirúrgicos e de coletar muitas amostras; é onívoro (semelhante para fisiologia); vida útil longa (10-20 anos); possui várias raças (541); maturidade sexual precoce (5 a 8 meses); gestação (114 dias); reprodução em todas as estações; tamanho de ninhada grande (10 a 12 leitões / ninhada), 24 a 36 leitões / ano; padronização bem desenvolvida das condições de reprodução; homologias com alto genoma e sequência de proteínas com homólogos; assemelham-se estreitamente aos seres humanos para > 80% dos parâmetros imunológicos analisados (vs <10% para ratos), muitas ferramentas de estudo estão disponíveis (linhas celulares, anticorpos, ELISA e microarrays); avanços na clonagem e na tecnologia transgênica; mais barato e eticamente mais aceitável que os primatas, que são mais perto de humanos que porcos <sup>52</sup>.

Existem também várias aplicações do modelo suíno para doenças metabólicas, cardiovasculares, infecciosas, xenotransplantes e distúrbios

neurológicos e uma visão geral das possibilidades que as diversas técnicas proteômicas oferecem para estudar essas patologias <sup>53</sup>.

## 7.2 Mortalidade

Observando a mortalidade global no grupo Toracotomia, elas ocorreram somente no grupo Toracotomia Sham SE, como optamos no início do estudo que não usaríamos o Missing Data e que as perdas seriam repostas, a exceção dos animais que morressem após 20 h de experimento.

Realizamos cirurgia com Toracotomia Sham SE em 8 animais, 3 morreram, 2 animais com menos de 20 horas de experimento, sendo descartados e um utilizado.

A causa mortis em todos os animais foi fibrilação atrial irreversível. Realizamos necropsia em todos para descartar alguma complicação cirúrgica como causa. No grupo toracotomia CE não tivemos nenhum óbito.

Sabemos que a cirurgia torácica é um fator de risco para arritmia em 17 a 20% dos casos, principalmente a fibrilação atrial e a taquicardia supraventricular <sup>54,55,56,57</sup>.

Quando comparamos os grupos Toracotomia CE e Toracotomia Sham SE, o grupo Sham teve 37% de mortalidade global, enquanto o grupo CE não houve nenhuma. No Grupo Robótica, somente um animal do grupo Sham morreu com 22 horas de experimento, após 4 horas de choque cardiogênico e arritmia irreversível.

O estímulo vagal funcionou como um fator protetor, principalmente cardioprotetor, visto que a arritmia foi a causa mortis, evitando a FA e consequentemente o óbito.

Já existem estudos mostrando os efeitos da estimulação vagal como cardioprotetor<sup>58,59,60</sup>. O efeito protetor da eletroestimulação vagal ocorre devido a inibição da atividade do plexo ganglionar e do gânglio estrelado esquerdo, reduzindo a ação simpática nesse gânglio, suprimindo taquiarritmias atriais paroxísticas<sup>61</sup>.

### **7.3 Dados clínicos e hemodinâmicos**

Em todos os dados clínicos e hemodinâmicos, o único que apresentou uma significância estatística foi a Frequência cardíaca ( $p=0,024$ ) no grupo Robótica CE em comparação ao Robótica Sham.

Observamos que durante a realização da cirurgia robótica usamos a insuflação de CO<sub>2</sub> na cavidade pleural para que ocorra a atelectasia pulmonar e seja possível a realização da lobectomia.

Estudos já mostraram anteriormente que a insuflação de CO<sub>2</sub> causava bradicardia e hipotensão arterial<sup>62</sup>.

Mesmo com uma baixa pressão utilizada (6 mmhg) observamos que a pressão causava um pequena hipotensão e queda da FC. Porém no grupo Robótica CE houve uma melhor adaptação cardio-hemodinâmica no pós-operatório, com os animais apresentando uma maior FC durante as 24 horas de experimento.

A hipótese é que o estímulo vagal libere Peptídeo Vasotivo Intestinal (VIP) ou uma substância "VIP-like" que aumenta significativamente a contração ventricular direita e a FC<sup>63</sup>.

## 7.4 Complicações clínicas

Quando comparamos as complicações clínicas nos grupos Toracotomia CE e Sham, nossos resultados apontam para um efeito protetor da estimulação vagal.

A dessaturação foi significativamente menor no grupo Toracotomia CE ( $p=0,015$ ) em comparação ao grupo Sham SE. Alguns estudos citam o efeito protetor do EV na lesão pulmonar, atuando diminuindo a resposta inflamatória local <sup>64,65,66</sup>.

Estudos de microscopia eletrônica mostraram que existem fibras do nervo vago presentes nos alvéolos <sup>67,68,69</sup>, o estímulo vagal modula a liberação de citocinas inflamatórias alveolares, impedindo a lesão local e exercendo efeito protetor pulmonar, mantendo a homeostase respiratória, com boa troca gasosa e prevenindo a hipoxemia como também a hipercapnia.

Com relação às complicações cardíacas, bradicardia e o Bloqueio átrio-ventricular (BAV) de segundo grau, o grupo Toracotomia CE não houve nenhuma complicação em comparação ao grupo Sham SE ( $p=0,015$ ). Conforme dito anteriormente o Estímulo vagal teve um efeito cardioprotetor claro, provavelmente através da liberação de VPN<sup>61</sup>, que impedindo a presença da bradicardia persistente e consequente evolução para um BAV de segundo grau.

Quando analisamos os grupos CE x Sham independente do estímulo, o grupo Sham apresentou maiores índices de complicações com relação à dessaturação, hipercapnia, bradicardia / BAV 2º grau todos com significância estatística. Quando avaliamos a taxa de complicações totais, ocorreu significativamente maior ( $p=0,004$ ) no grupo Sham. Isso nos mostra o efeito protetor da estimulação vagal local.

**Análises de citocinas do plasma, BAL, parênquima pulmonar do parênquima pulmonar**

A tabela abaixo mostra todas as citocinas e genes expressos com significância estatística com características pró-inflamatórias, anti-inflamatórias e imunológicas, discriminando o aumento e a diminuição em cada grupo.

**Tabela 17:** Citocinas pró-inflamatórias, anti-inflamatórias e imunomoduladoras

Citocinas pró-inflamatórias	CE independente da cirurgia	Sham independente da cirurgia	GT independente do estímulo	GR independente do estímulo	Toracotomia CE	Toracotomia Sham	Robótica CE	Robótica Sham
1) Soro								
IL 6			↓	↑				
2) BAL								
IL 6							↓	↑
3) Parênquima pulmonar								
IL 1B			↑	↓				
IL 18			↑	↓				

Citocinas anti-inflamatórias e imunológicas	CE independente da cirurgia	Sham independente da cirurgia	GT independente do estímulo	GR independente do estímulo	Toracotomia CE	Toracotomia Sham	Robótica CE	Robótica Sham
1) Soro								
GM-CSF					↓	↑		
IL 1Ra			↑	↓				
2) BAL								
GM-CSF			↑	↓	↑	↓		
IFN γ					↑	↓		
IL 2					↑	↓		
IL 4			↑	↓				
3) Parênquima pulmonar								
IL 1Ra			↑	↓				
IL 4			↑	↓				
IL 10			↑	↓				
IL 12			↑	↓				

## 7.5 Citocinas avaliadas no plasma

### 1) GM-CSF

**GM-CSF: Toracotomia CE x Toracotomia Sham**

O GM-CSF é um importante fator de crescimento hematopoiético e imunomodulador. Ele produz profundos efeitos na função da atividade de vários leucócitos circulantes. Tem função de recrutar neutrófilos circulantes, monócitos e linfócitos para aprimorar suas funções na defesa imune <sup>70</sup>.

Podem ser produzidos por uma variedade de células, incluindo fibroblastos, células endoteliais, células T, macrófagos, células mesoteliais <sup>71</sup>. Endotoxinas bacterianas, citocinas inflamatórias como IL 1, IL 6 e TNF  $\alpha$  são potenciais indutores de GM-CSF <sup>72,73,74,75,76</sup>.

Apesar de ter um efeito na função imune, inicialmente o GM-CSF pode sugerir uma citocina pró-inflamatória <sup>77</sup>. Ele pode fazer parte do papel central em várias doenças inflamatórias incluindo artrite reumatóide, doenças inflamatórias renais e doenças pulmonares <sup>78</sup>. É um importante mediador em modelos de inflamação pulmonar e controle de neutrófilos e macrófagos, bem como a expressão de TLR-4 que detecta lipopolissacarídeo (LPS) de bactérias gram-negativas e por consequência, importante na ativação da resposta imune inata <sup>79</sup>.

De acordo com nosso estudo, o grupo Toracotomia CE quando comparado ao grupo Toracotomia Sham diminuiu a produção de GM-CSF nas primeiras 24 h de PO, o que pode ter neutralizado assim um efeito pró-inflamatório inicial.

## **2) IL1 Ra**

### **Grupo Toracotomia x Grupo Robótica independentes de estímulo**

A IL-1 Ra é uma citocina antagonista das citocinas pró-inflamatórias IL 1  $\alpha$  e IL 1  $\beta$ . Ela é secretada por vários tipos de células, incluindo do sistema imune, células epiteliais e adipócitos <sup>80</sup>.

Durante a resposta inflamatória os níveis de IL1 Ra têm a tendência de se elevar em conjunto com os níveis de IL1, sugerindo a função da IL1 Ra para

bloquear a atividade da IL1 e tendo um papel para diminuir a resposta inflamatória <sup>81</sup>.

O grupo Robótica mostrou um aumento nos níveis de IL1 Ra em comparação com o grupo Toracotomia podendo significar um maior efeito anti-inflamatório representado pelo antagonismo do IL1 Ra.

### **3) IL-6**

#### **Grupo Toracotomia x Grupo Robótica independentes de estímulo**

A IL-6 é uma interleucina que age como uma citocina pró-inflamatória e como mioquina anti-inflamatória <sup>82</sup>. Ela é produzida por diversos monócitos e macrófagos de diversos tecidos <sup>83</sup>.

A IL 6 pode ter propriedades pró e anti-inflamatórias. Enquanto apenas poucas células expressam o receptor de IL6 e respondem à IL6 (a chamada sinalização clássica), todas as células podem ser estimuladas através de um receptor de IL6 solúvel (a sinalização Trans). A sinalização clássica e Trans podem ser inibidas diferencialmente. Aparentemente a IL6 via sinalização Clássica tem funções regenerativas e anti-inflamatórias, enquanto a sinalização trans é pró-inflamatória. As funções pró-inflamatórias podem ser inibidas pela proteína sgp130Fc gerando efeito anti-inflamatório. Quando a IL6 se liga primeiro ao receptor mbIL-6R ocorre o efeito inflamatório <sup>84</sup>.

Acreditamos dessa forma que a cirurgia robótica possa ter causado um efeito celular com sinalização da via da proteína Sgp130FC tendo uma resposta anti-inflamatória.

## **7.6 Citocinas do BAL**



## 1) **GM-CSF**

### **GM-CSF: BAL Toracotomia CE x Toracotomia Sham**

O grupo Toracotomia CE apresentou maiores níveis de GM-CSF na análise do BAL com significância estatística quando comparado ao grupo Toracotomia Sham.

O GM-CSF tem papel na regulação da homeostase do surfactante pulmonar e nas defesas alveolares <sup>85</sup> e influencia o crescimento do epitélio alveolar do pulmão <sup>86</sup> e metabolismo do surfactante no pneumócito tipo II e na ação dos macrófagos alveolares <sup>87</sup>.

Concluimos que o EV aumentou os níveis de GM-CSF e conseqüentemente podendo melhorar a inflamação alveolar e oxigenação, conforme mostramos a ocorrência de dessaturação menor no grupo Toracotomia CE.

### **GM-CSF: Grupo Toracotomia x Grupo Robótica independente de estímulo**

Observamos em nosso estudo que o estímulo vagal exerceu um papel direto na modulação de GM-CSF traqueo-brônquico.

Mesmo comparando os grupos Robótica e Toracotomia independente do estímulo, o segundo apresentou níveis mais altos que o primeiro. Isso pode demonstrar que o EV realizado em cirurgias abertas pode ser útil para a resposta imunológica local.

## 2) **IFN $\gamma$**

### **IFN $\gamma$ : BAL Toracotomia CE x Toracotomia Sham**

O IFN  $\gamma$  é um interferon do tipo II, com um papel predominantemente na ativação dos macrófagos na resposta imune inata e adaptativa <sup>88</sup>, sendo uma glicoproteína produzida por linfócitos T, células NK e outros tipos de células <sup>89</sup>.

Também foi reportado que IFN  $\gamma$  melhorou o recrutamento de polimorfonuclear pulmonar em animais com infecção pulmonar <sup>90</sup>.

Observamos em nosso estudo que o grupo Toracotomia CE mostrou maiores níveis de IFN  $\gamma$  e quando comparado com Toracotomia Sham SE, o que pode sugerir que o estímulo vagal aumenta os níveis de IFN  $\gamma$  intra-traqueal, podendo ser útil para uma melhor resposta imune local.

### **3) IL2**

#### **IL-2: BAL Toracotomia CE x Toracotomia Sham**

A IL2 é produzida principalmente por células T ativadas, principalmente CD4+, CD8 e células NK, sendo sintetizada em menor quantidade por células B e monócitos <sup>91</sup>.

É o principal fator estimulador de células T, sendo um fator de crescimento e ativação para todas as subpopulações de linfócitos T, é um agente proliferativo antígeno inespecífico e ainda estimula a proliferação e ativação de células NK, tendo assim atividade anti-humoral <sup>92</sup>. Promove a síntese de IL1, TNF  $\alpha$  e TNF  $\beta$ , sendo essa ação mediada pela produção de IFN  $\gamma$  <sup>91</sup>.

Nosso estudo mostrou que o grupo Toracotomia CE apresentou IL2 em maiores níveis que o grupo Toracotomia Sham SE, isso nos fez concluir que o estímulo vagal exerceu uma função imunomoduladora pulmonar.

### **4) IL6**

#### **BAL Robótica CE x Robótica Sham**

Quando comparamos os grupos Robótica CE e Robótica Sham, somente a IL6 apresentou significância estatística com maior nível no grupo Sham.

Esse resultado nos levou a concluir que o estímulo vagal conseguiu diminuir a resposta inflamatória local mostrada com uma menor expressão de IL6, apesar de ter efeito intra traqueal, não houve uma clara associação entre o achado da citocina IL 6 elevada e os parâmetros clínicos avaliados, pois os dois grupos se comportaram praticamente iguais.

## 5) IL -4

### **IL-4: BAL Grupo Toracotomia x Robótica independentes de estímulo**

É uma citocina anti-inflamatória que funciona como um potente regulador da resposta imune e é secretada principalmente pelos mastócitos, células Th 2, eosinófilos e basófilos. Atua como um fator importante na sobrevivência de leucócitos em condições fisiológicas e patológicas, troca de classe Ig E nas células B e preparo e homeostase tecidual através da ativação “alternativa” de macrófagos, ou seja, uma via de ativação de macrófagos que difere da via pró inflamatória clássica <sup>93,94,95,96,97,98,99</sup>.

Pode proteger as células linfóides de apoptose, regular a proliferação, diferenciação e apoptose de outras células de origem hematopoiética e não hematopoiética<sup>100</sup>. Por outro lado, a IL 4 pode estar relacionada a processos alérgicos inflamatórios pulmonares. Está associada a secreção de Ig E pelos linfócitos B. Uma atividade importante da IL4 na promoção da inflamação celular no pulmão do asmático é a indução da molécula de adesão celular vascular (VCAM -1) no endotélio vascular <sup>101</sup>. Porém o efeito de hiperresponsividade pulmonar inflamatória está relacionado a uma produção aberrante dessa citocina <sup>101</sup>.

Quando avaliamos os Grupos Toracotomia x Grupo Robótica independente de estímulo, encontramos maiores níveis no primeiro mostrando tanto efeito antiinflamatório de uma cirurgia aberta, porém quando em níveis

muito elevados pode ter um efeito adverso e um estímulo de hiperrresponsividade brônquica.

## **7.7 Citocinas do parênquima pulmonar**

### **1) IL 1 $\beta$**

#### **Grupo Toracotomia x Grupo Robótica independente de estímulo**

A IL 1  $\beta$  é uma potente citocina pró-inflamatória que é crucial para as respostas de defesa do hospedeiro à infecção e lesão <sup>102</sup>. É produzida e secretada por uma variedade de tipos de células, como monócitos, macrófagos e células do sistema imunológico inato <sup>103</sup>, sendo produzida por uma pró IL 1  $\beta$  em respostas a padrões moleculares associados a patógenos que atuam através dos receptores de reconhecimento de padrões nos macrófagos para regular as vias que controlam a expressão gênica dessa citocina <sup>103,104</sup>.

A IL 1  $\beta$  é uma citocina induzível e geralmente não é expressa em células e tecidos saudáveis, no entanto, ela é rapidamente induzida nas células pela ativação de receptores de reconhecimento de padrões, como produtos patogênicos ou fatores liberados por células danificadas <sup>105,106</sup>.

Em 2001, Rolb e cols mostraram que a superexpressão de IL 1  $\beta$  em pulmões de ratos causava uma resposta inflamatória aguda com fibrose tecidual progressiva grave <sup>107</sup>. Outros estudos demonstraram que a administração de IL 1  $\beta$  pode induzir uma resposta fibrótica no pulmão <sup>108,109</sup>.

Nosso estudo demonstrou que quando analisamos o Grupo Toracotomia com o Grupo Robótica independente de estímulo, o primeiro apresentou maiores níveis dessa citocina, evidenciando uma maior resposta inflamatória pulmonar causada pela cirurgia aberta.

**2) IL1 Ra****Grupo Toracotomia x Grupo Robótica independente de estímulo**

O aumento da IL1 Ra no tecido pulmonar refletiu o nosso resultado da maior liberação de IL 1  $\beta$ , mostrando que o Grupo Toracotomia apresentou maiores níveis também de IL 1 Ra, exercendo um efeito anti-inflamatório também ao nível do parênquima pulmonar devido a um maior efeito inflamatório da IL 1  $\beta$ .

**3) IL 4****Grupo Toracotomia x Grupo Robótica independente de estímulo**

Quando comparamos os grupos Toracotomia e Robótica independente de estímulo, a IL 4 estava aumentada no primeiro. Conforme explicado previamente, a IL 4 é uma citocina anti-inflamatória e de acordo com esse resultado a Toracotomia apresenta uma maior resposta anti-inflamatório pulmonar maior que a cirurgia Robótica.

**4) IL 10****Grupo Toracotomia x Grupo Robótica independente de estímulo**

A IL 10 é uma citocina com propriedade anti-inflamatória potente que desempenha um papel crucial e muitas vezes essencial na prevenção de patologias inflamatórias e autoimunes. A deficiência ou expressão aberrante da IL 10 pode melhorar a resposta inflamatória, mas também levam ao desenvolvimento de doenças inflamatórias e autoimunes <sup>110</sup>. É produzida por células T helper, monócitos, macrófagos e células dendríticas, no entanto, vários outros tipos de células imunes são capazes de produzi-la, incluindo células B, células T citotóxicas, células NK, mastócitos <sup>111,112,113</sup>.

Em estudos experimentais realizados em roedores a IL 10 reduziu a fibrose subepitelial associada a uma endotoxina cronicamente inalada <sup>114</sup> promoveu a resolução da inflamação neutrofílica no pulmão <sup>115</sup> e reduziu a imunopatologia viral e induzida por bactérias <sup>116,117</sup>.

A IL 10 elevada no grupo Toracotomia demonstra a capacidade da mesma ser um mecanismo homeostático essencial para controlar o grau e a duração da inflamação. Isso mostra que quanto maior a resposta inflamatória, vista em casos de cirurgias convencionais abertas, como a toracotomia no nosso estudo, maior deverá ser a resposta anti-inflamatória para contrabalancear a resposta inflamatória.

Estudos mostraram que pacientes submetidos a toracotomia apresentaram uma maior concentração plasmática de IL 10, em associação a IL 6, IL 8 <sup>118,119,120</sup>. Isso demonstra que a IL 10 é diretamente proporcional ao trauma cirúrgico e a resposta inflamatória.

## **5) IL 12**

### **IL 12: Toracotomia CE x Toracotomia Sham**

É uma citocina secretada pelos linfócitos B, neutrófilos, células dendríticas e macrófagos após a ativação por células apresentadoras de antígeno <sup>121</sup>. Tem a função de aumentar a secreção e atividade do IFN  $\gamma$  e pelas células NK e pelos linfócitos T auxiliares (CD4) tipo 1 aumentando a resposta citotóxica<sup>122</sup>.

Ela apresenta duas subunidades, a p35 (que apresenta semelhanças com a IL 6 e GM-CSF) e a p40 é relatada com uma função quimioatraente para macrófagos, induzindo migração de células dendríticas <sup>123,124</sup>.

Nosso estudo mostrou que o EV no grupo Toracotomia CE estimulou a produção dessa citocina em altos níveis quando comparado com a Toracotomia Sham, isso pode demonstrar o estímulo vagal pode modular a resposta

inflamatória local devido à presença do aumento dessa citocina no parênquima pulmonar o que poderia aumentar a resposta das células NK e linfócitos locais

### **IL 12: Grupo Toracotomia x Grupo Robótica independente de estímulo**

Os altos níveis de IL 12 no grupo Toracotomia quando este foi comparado ao grupo Robótica independente do estímulo pode ser explicado devido aos maiores níveis no grupo Toracotomia CE isso pode demonstrar o papel do EV na função imune pulmonar mesmo quando comparamos cirurgia aberta com cirurgia robótica.

### **6) IL 18: Grupo Toracotomia x Grupo Robótica independente de estímulo**

A IL 18 é uma citocina membro da família de citocinas IL 1, aumenta a produção de IFN  $\gamma$  a partir de células Th 1 estimuladas por anti-CD3, especialmente na presença de IL-12. É uma citocina pró-inflamatória que facilita as respostas do tipo 1 e também atua estimulando os mastócitos a produzir IL 4, IL 13 e mediadores químicos como a histamina <sup>125</sup>.

Ela é produzida por leucócitos mielóides e células epiteliais pulmonares <sup>126</sup> e se liga ao seu receptor (IL 18R) que é expresso em baixos níveis nas células T <sup>127</sup>.

Em estudo experimental em roedores mostrou que a superexpressão induzível de IL 18 no epitélio das vias aéreas induz a expressão de Th1, levando a respostas aumentadas de linfócitos citotóxicos, apoptose de células septais alveolares e aumento do espaço aéreo <sup>127</sup>. Além disso a IL 18 conduz respostas das citocinas Th2 levando à metaplasia do muco, fibrose das pequenas vias aéreas e remodelação vascular com hipertensão pulmonar e hipertrofia ventricular direita <sup>127</sup>.

Nosso estudo demonstrou que a cirurgia aberta, representada pela Toracotomia apresentou maiores níveis quando comparado a cirurgia robótica independente do estímulo. Isso nos leva a concluir que a cirurgia aberta é causadora de maior inflamação pulmonar e liberação de IL 18 do que a cirurgia robótica.

## **7.8 Limitações**

As principais limitações do estudo foram:

### **A) Curva de aprendizado**

Por se tratar de uma técnica nova, a cirurgia robótica demanda treino para chegar à expertise, realizar uma lobectomia robótica em suínos foi uma difícil tarefa, pois foi necessário adequarmos os portais que nos primeiros animais não ficaram na posição 100% adequada o que dificultou em algumas cirurgias e a familiarização com a cavidade torácica do animal que por ser menor que a do ser humano, as pinças robóticas e a óptica ficaram muito próximas das estruturas anatômicas.

### **B) Pequeno número de animais**

É possível que o nosso N de 24 animais, 12 em cada grupo possa ter influenciado nos resultados, por ter sido um N pequeno, pode se tratar de uma amostra não representativa.

### **C) Não utilização do Multímetro no grupo Robótica**

Pelo fato de a cirurgia robótica ter sido feita através de uso de trocateres, não dispúnhamos de um aparelho que pudesse ter sido usado através dos portais para averiguar com certeza a correta voltagem utilizada. É possível que no grupo Robótica CE o nervo vago não tenha sido corretamente estimulado na voltagem proposta, uma vez que conseguimos conferir no início do estímulo.

### **D) Necessidade de realizar cirurgia sequencial**



Devido a disponibilidade variável da plataforma robótica Da Vinci<sup>®</sup> para a utilização na pesquisa, optamos pela realização das cirurgias de forma sequencial realizando somente a randomização do estímulo.

E) Indisponibilidade de aparelho de hemograma e gasometria arterial

Devido a indisponibilidade de aparelhos que pudessem fazer a leitura do hemograma completo e da gasometria arterial, não pudemos utilizar esses dados na pesquisa. A análise de oxigênio foi analisada através da saturação de O<sub>2</sub> visualizada no monitor e o CO<sub>2</sub> monitorizado através de capnografia da ETCO<sub>2</sub>. Algumas informações importantes do hemograma não tivemos condições de analisar.

## 7.9 Considerações finais

O EV como modulador da resposta inflamatória e imunológica pode ser diretamente proporcional ao trauma e injúria, o que pode explicar nossos achados de maior ativação de citocinas no grupo toracotomia. Talvez a cirurgia minimamente invasiva não capaz de ativar os receptores neurais que seriam ativados pelo nervo vago, mesmo quando estimulados artificialmente, poderia haver um mecanismo de feedback negativo, diminuindo os efeitos do EV.

Vários estudos com sucesso na literatura são com modelos de extrema inflamação como por exemplo choque, sepse, reperfusão, hemorragia. O fato de o grupo toracotomia ter tido melhor resultado nos leva a pensar que a ativação vagal eficaz seja diretamente proporcional à magnitude da injúria.



## ***8 Conclusões***

---

Esse estudo demonstrou que a estimulação vagal no pós-operatório imediato de cirurgia torácica:

- Diminuiu a resposta inflamatória alveolar, principalmente por ativação de citocinas anti-inflamatórias no BAL e conseqüentemente reduzindo episódios de dessaturação, hipóxia e hipercapnia.
- Não alterou a expressão de citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias no parênquima pulmonar
- Não apresentou alterações de edema, fibrose e inflamação tecidual pulmonar
- Mostrou um efeito cardioprotetor com menor risco de bradicardia e BAV de segundo grau.
- Teve efeito imunomodulador mais evidente no grupo Toracotomia o qual apresentou resposta inflamatória mais exuberante.

## **9 Anexos**

---

## Aprovação CEUA USP



Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo  
Avenida Dr. Arnaldo, 455  
Pacaembu – São Paulo – SP

## COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Certificamos que o projeto intitulado “**Modulação da resposta inflamatória e imunológica pela eletroestimulação vagal em porcos submetidos à ressecção pulmonar por toracotomia convencional ou cirurgia robótica**” protocolo nº **018/16** sob a responsabilidade de **Ricardo Mingarini Terra** e **Erlon de Avila Carvalho**, apresentado pelo Departamento de Cardiopneumologia - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Faculdade de Medicina da USP em reunião de 09.03.16

Vigência do Projeto	Junho/2017
Espécie/linhagem	Não se aplica
Nº de animais	Não se aplica
Peso/Idade	Não se aplica
Sexo	Não se aplica
Origem	Não se aplica

CEUA-FMUSP, 09 de Março de 2016

Dr. Eduardo Pompeu  
Coordenador  
**Comissão de Ética no Uso de Animais**

Comissão de Ética no Uso de Animais da FMUSP  
e-mail: [ceua.fm@usp.br](mailto:ceua.fm@usp.br)



## INSTITUTO SÍRIO-LIBANÊS DE ENSINO E PESQUISA

### Comissão de Ética no Uso de Animais

São Paulo, 27 de setembro de 2015

REFERENTE PROTOCOLO: CEUA-P 2014-08

Título do Projeto: ***Modulação da resposta inflamatória e imunológica pela eletroestimulação vagal em porcos submetidos à ressecção pulmonar por toracotomia convencional ou cirurgia robótica – Projeto Piloto***  
Responsável **Ricardo Mingarini Terra**

**Submetido em: 09/12/2014**

**Avaliado em: 01/06/2015**

**Revisado pelo responsável em: 21/09/15**

**Aprovado em: 27/09/2015**

#### CONSIDERAÇÕES:

A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) avaliou a resposta do responsável sobre as solicitações iniciais e considerou-a satisfatória. O responsável apresentou argumentos contrários ao uso do procedimento de superficialização do plano anestésico nos suínos durante período experimental. Desta forma os animais serão mantidos anestesiados e sedados durante todo o período experimental.

Os resultados obtidos no estudo-piloto, incluindo possibilidade de redução do tempo observacional, devem ser criteriosamente avaliados para assegurar que o estudo é logisticamente viável e precisam ser relatados por escrito para esta comissão.

Projeto aprovado e vinculado à apresentação dos resultados provenientes do estudo-piloto, incluindo eventuais alterações de procedimento no experimento principal.

O projeto foi considerado "**APROVADO**" pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Hospital Sírio Libanês, para ser executado conforme o planejamento apresentado.

Dr. Bruno Gregnanin Pedron  
Coordenador Comissão de Ética no Uso de Animais  
Hospital Sírio-Libanês

Rua Peixoto Gomide, 316 7º andar – CEP: 01409-000 – São Paulo – SP – Tel. 55 11 3394.5701  
[www.hospitalsiriolibanes.org.br](http://www.hospitalsiriolibanes.org.br)

Página 1 de 1



Para uso exclusivo da FAPESP
Processo: 2014/24526-4
Data impressão: 30/08/2017 14:22:32
Folha: _____
Volume: _____
Rubrica: _____

FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO  
ADITIVO AO TERMO DE OUTORGA E ACEITAÇÃO DE AUXÍLIOS  
PROCESSO 2014/24526-4

Pelo presente instrumento, a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, com sede na Rua Pio XI, nº 1.500, Alto da Lapa, São Paulo, Capital, inscrita no CNPJ/MF sob nº 43.828.151/0001-45, doravante denominada OUTORGANTE, por meio de seu Conselho Técnico-Administrativo, nos termos do Artigo 14, letra "b", da Lei Estadual nº 5.918, de 18 de outubro de 1960, resolve alterar o Termo de Outorga nos termos a seguir especificados, mantidas as cláusulas das "Condições Gerais de Concessão de Benefícios" anteriormente firmadas.

<b>1. OUTORGADO:</b>	Ricardo Mingarini Terra CPF: 174.973.008-14 RG: 268257474-SSP/SP
<b>2. Correspondência:</b>	Rua Luminárias, 274 - apto 61, Jardim das Bandeiras, São Paulo/SP, CEP 05439-000 mterra@uol.com.br
<b>3. Instituição Sede:</b>	Hospital Sírio-Libanês/HSL Sociedade Beneficente de Senhoras Hospital Sírio-Libanês/SBSHSL
<b>4. Projeto de Pesquisa:</b>	Modulação da resposta inflamatória e imunológica pela eletroestimulação vagal em porcos submetidos à ressecção pulmonar por toracotomia convencional ou cirurgia robótica.
<b>5. Linha de Fomento:</b>	Programas Regulares / Auxílios a Pesquisa / Projeto de Pesquisa / Projeto de Pesquisa - Regular
<b>6. Área/Subárea:</b>	Medicina Cirurgia
<b>7. Coordenação:</b>	Saúde I
<b>8. Período da Vigência:</b>	01/10/2015 a 31/03/2018
<b>9. Relatórios Científicos:</b>	30/09/2016, 30/10/2017, 30/04/2018
<b>10. Prestações de Contas:</b>	30/09/2016, 30/10/2017, 30/04/2018





Para uso exclusivo da FAPESP  
Processo: 2014/24526-4  
Data impressão: 30/08/2017 14:22:32  
Folha: \_\_\_\_\_  
Volume: \_\_\_\_\_  
Rubrica: \_\_\_\_\_

São Paulo,

Outorgado \_\_\_\_\_

Pela Instituição Sede \_\_\_\_\_

Hospital Sírio-Libanês/HSL/SBSHSL

Outorgante

\_\_\_\_\_  
Andreia Alves Neves  
Por Procuração

\_\_\_\_\_  
Fernando Dias Menezes de Almeida  
Diretor Administrativo



Para uso exclusivo da FAPESP  
 Processo: 2014/24528-4  
 Data Impressão: 30/08/2017 14:22:32  
 Folha: \_\_\_\_\_  
 Volume: \_\_\_\_\_  
 Rubrica: \_\_\_\_\_

**ANEXO I: Relação dos Benefícios e Materiais Concedidos**

<b>Capital</b>				
<b>Material Permanente</b>				
Não houve concessão para esta alínea.				
<b>Custeio</b>				
<b>Material de Consumo</b>				
Materiais e/ou serviços estritamente necessários para a realização deste projeto.				
<b>Serviços de Terceiros</b>				
Não houve concessão para esta alínea.				
<b>Despesas de Transporte</b>				
Não houve concessão para esta alínea.				
<b>Reserva Técnica - Benefícios Complementares</b>				
Utilização conforme normas vigentes.				
<b>Pesquisador</b>	<b>Função</b>	<b>Início</b>	<b>Término</b>	<b>Possui BC</b>
Ricardo Mingarini Terra	Pesq.Responsável	01/10/2015	30/09/2017	Sim
Ricardo Mingarini Terra	Pesq.Responsável	01/10/2017	31/03/2018	Não
<b>Reserva Técnica - Custo de Infraestrutura Direta do Projeto</b>				
Utilização conforme normas vigentes.				
<b>Diárias</b>				
Não houve concessão para esta alínea.				
<b>Concessão de Quotas de Bolsas</b>				
Não houve concessão para esta alínea.				



Para uso exclusivo da FAPESP
Processo: 2014/24526-4
Data impressão: 30/08/2017 14:22:32
Folha: _____
Volume: _____
Rubrica: _____

FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO  
ADITIVO AO TERMO DE OUTORGA E ACEITAÇÃO DE AUXÍLIOS  
PROCESSO 2014/24526-4

<p>Pelo presente instrumento, a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, com sede na Rua Pio XI, nº 1.500, Alto da Lapa, São Paulo, Capital, inscrita no CNPJ/MF sob nº 43.828.151/0001-45, doravante denominada OUTORGANTE, por meio de seu Conselho Técnico-Administrativo, nos termos do Artigo 14, letra "b", da Lei Estadual nº 5.918, de 18 de outubro de 1960, resolve alterar o Termo de Outorga nos termos a seguir especificados, mantidas as cláusulas das "Condições Gerais de Concessão de Benefícios" anteriormente firmadas.</p>	
<b>1.OUTORGADO:</b>	Ricardo Mingarini Terra CPF: 174.973.008-14 RG: 268257474-SSP/SP
<b>2.Correspondência:</b>	Rua Luminárias, 274 - apto 61, Jardim das Bandeiras, São Paulo/SP, CEP 05439-000 rmterra@uol.com.br
<b>3.Instituição Sede:</b>	Hospital Sírio-Libanês/HSL Sociedade Beneficente de Senhoras Hospital Sírio-Libanês/SBSHSL
<b>4.Projeto de Pesquisa:</b>	Modulação da resposta inflamatória e imunológica pela eletroestimulação vagal em porcos submetidos à ressecção pulmonar por toracotomia convencional ou cirurgia robótica.
<b>5.Linha de Fomento:</b>	Programas Regulares / Auxílios a Pesquisa / Projeto de Pesquisa / Projeto de Pesquisa - Regular
<b>6.Área/Subárea:</b>	Medicina Cirurgia
<b>7.Coordenação:</b>	Saúde I
<b>8.Período da Vigência:</b>	01/10/2015 a 31/03/2018
<b>9.Relatórios Científicos:</b>	30/09/2016, 30/10/2017, 30/04/2018
<b>10.Prestações de Contas:</b>	30/09/2016, 30/10/2017, 30/04/2018



Para uso exclusivo de FAPESP  
Processo: 2014/24526-4  
Data impressão: 30/08/2017 14:22:32  
Folha: \_\_\_\_\_  
Volume: \_\_\_\_\_  
Rubrica: \_\_\_\_\_

São Paulo,

Outorgado

Pela Instituição Sede

Hospital Sírio-Libanês/HSL/SBSHSL

Outorgante

\_\_\_\_\_  
Andreia Alves Neves  
Por Procuração

\_\_\_\_\_  
Fernando Dias Menezes de Almeida  
Diretor Administrativo



Para uso exclusivo da FAPESP  
 Processo: 2014/24526-4  
 Data impressão: 30/08/2017 14:22:32  
 Folha: \_\_\_\_\_  
 Volume: \_\_\_\_\_  
 Rubrica: \_\_\_\_\_

**ANEXO I: Relação dos Benefícios e Materiais Concedidos**

<b>Capital</b>				
<b>Material Permanente</b>				
Não houve concessão para esta alínea.				
<b>Custeio</b>				
<b>Material de Consumo</b>				
Materiais e/ou serviços estritamente necessários para a realização deste projeto.				
<b>Serviços de Terceiros</b>				
Não houve concessão para esta alínea.				
<b>Despesas de Transporte</b>				
Não houve concessão para esta alínea.				
<b>Reserva Técnica - Benefícios Complementares</b>				
Utilização conforme normas vigentes.				
<b>Pesquisador</b>	<b>Função</b>	<b>Início</b>	<b>Término</b>	<b>Possui BC</b>
Ricardo Mingarini Terra	Pesq. Responsável	01/10/2015	30/09/2017	Sim
Ricardo Mingarini Terra	Pesq. Responsável	01/10/2017	31/03/2018	Não
<b>Reserva Técnica - Custo de Infraestrutura Direta do Projeto</b>				
Utilização conforme normas vigentes.				
<b>Diárias</b>				
Não houve concessão para esta alínea.				
<b>Concessão de Quotas de Bolsas</b>				
Não houve concessão para esta alínea.				



Para uso exclusivo da FAPESP  
 Processo: 2014/24526-4  
 Data impressão: 30/08/2017 14:22:32  
 Folha: \_\_\_\_\_  
 Volume: \_\_\_\_\_  
 Rubrica: \_\_\_\_\_

--	--

Concessão Total	
Parte em Reais: estão incluídos neste valor os recursos concedidos ou convertidos para real	R\$ 108.971,63
Parte em moeda estrangeira: estão incluídos neste valor os recursos concedidos em dólar e não convertidos para real	US\$ 23.548,90
Provisão para Importação: recursos para uso exclusivo da Gerência de Importação e Exportação da FAPESP, conforme normas vigentes	R\$ 13.069,62

Alterações na Concessão	
Data	Descrição
30/08/2017	SM 001 - Alteração de Vigência (Vigência Anterior: 01/10/2015 a 30/09/2017 )

**GRUPO PILOTO****ANIMAL PILOTO: Animal Piloto Toracotomia**

Data: 10/11/2015 e 11/11/2015

Duração total: 24 hs

Cirurgia: Toracotomia

Macho

Peso: 35 kg

Tempo 0	FC: 37
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 122 x 68 mmhg
	PAM: 68
	Sat O2: 100 %
	Temp: 35,2 °C
	PAP:
	DC:
	PVC:
Tempo 1	FC: 54
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 145 x 101 mmhg
	PAM: 122
	Sat O2: 99 %
	Temp: 35,3 °C
	PAP:
	DC:
	PVC:
Tempo 2	FC: 88
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 137 x 70 mmhg
	PAM: 101
	Sat O2: 98 %
	Temp:
	PAP:
	DC:
	PVC:
Tempo 3	FC: 92
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 128 x 54 mmhg
	PAM: 86
	Sat O2: 91 %
	Temp: 40,7 °C
	PAP:
	DC: -
	PVC:
Tempo 4	FC: 103
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 120 x 51 mmhg
	PAM: 81
	Sat O2: 94 %
	Temp: 38,5 °C
	PAP:
	DC: -
	PVC:
Tempo 5	FC: 87
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 98 x 58 mmhg
	PAM: 73
	Sat O2: 94 %

	Temp: 38,5 ° C
	PAP:
	DC: -
	PVC:
Tempo 6	FC: 125
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 167 x 85 mmhg
	PAM: 123
	Sat O2: 95 %
	Temp: 38,4 ° C
	PAP:
	DC: -
	PVC:

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 2000 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs

### **ANIMAL PILOTO: Animal Robótica piloto**

Data: 08/12/2015 e 09/12/2015

Duração total: 24 hs

Cirurgia: Robótica

Macho

Peso: 43 kg

Tempo 0	FC: 79
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 120 x 80 mmhg
	PAM: 95
	Sat O2: 100 %
	Temp: 36,8 °C
	PAP: 43 (46 - 41)
	DC: 4,9
	PVC: 10
Tempo 1	FC: 59
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 95 x 56 mmhg
	PAM: 69
	Sat O2: 100 %
	Temp: 37,9 ° C
	PAP: 19 ( 19 x 14)
	DC: 2,9
	PVC: 12
Tempo 2	FC: 111
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 107 x 52 mmhg
	PAM: 70
	Sat O2: 100 %
	Temp:



	PAP:
	DC:
	PVC:
Tempo 3	FC: 120
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 111 x 62 mmhg
	PAM: 81
	Sat O2: 100 %
	Temp: 40 ° C
	PAP:
	DC: -
	PVC:
Tempo 4	FC: 126
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 94 x 42 mmhg
	PAM: 62
	Sat O2: 100 %
	Temp: 40,1 ° C
	PAP:
	DC: -
	PVC:
Tempo 5	FC: 97
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 109 x 41 mmhg
	PAM: 63
	Sat O2: 100 %
	Temp: 40 ° C
	PAP:
	DC: -
	PVC: 0
Tempo 6	FC: 90
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 113 x 39 mmhg
	PAM: 63
	Sat O2: 100 %
	Temp: 39,9° C
	PAP:
	DC: -
	PVC:

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 600 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs

## RESULTADOS MORTALIDADE

### **ANIMAL 1 TORACOTOMIA SHAM: Animal Óbito**

Data: 23/05/16

Duração total: 282 min

Cirurgia: Toracotomia sem estímulo Sham

Macho

Peso: 47 kg

Tempo 0	FC: 48
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 116 x 76 mmhg
	PAM: 90
	Sat O2: 100 %
	Temp: 36,4 °C
	PAP: 35
	DC: 3,4
	PVC: 8
Tempo 1	FC:
Coleta de 10 ml de sangue	PA:
	PAM:
	Sat O2:
	Temp:
	PAP:
	DC:
	PVC:
Tempo 2	FC:
Coleta de 10 ml de sangue	PA:
	PAM:
	Sat O2:
	Temp:
	PAP:
	DC:
	PVC:

*Causa mortis:* Óbito por arritmia cardíaca irreversível aos 282 min

Realizado necropsia : ausência de sinais de sangramento, lesão pulmonar e lesão cardíaca

### **ANIMAL 2 TORACOTOMIA SHAM: Animal Óbito**

Data: 16/02/16

Duração total: 1080 min

Cirurgia: Toracotomia sem estímulo Sham

Macho

Peso: 45 kg

Tempo 0	FC: 106
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 148 x 100 mmhg
	PAM:122
	Sat O2: 100 %
	Temp: 35 °C
	PAP: 27
	DC: 2,4
	PVC: 8
Tempo 1	FC: 116
Coleta de 10 ml de sangue	PA:142x105 mmhg
	PAM: 123
	Sat O2: 100%
	Temp: 36,4°C
	PAP: 27

	DC: 2,4
	PVC: 8
Tempo 2	FC: 99
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 106 x 69 mmhg
	PAM:87
	Sat O2:100%
	Temp: 36,1°C
	PAP: 23
	DC: 2,4
	PVC: 7
Tempo 3	FC: 83
Coleta de 10ml de sangue	PA: 94 x 63
	Sat O2: 100%
	PAM:76
	Temp: 36,4°C
	PAP: 20
	DC: 2,8
	PVC: 6

*Causa mortis:* Óbito por arritmia cardíaca irreversível aos 1080 min

Realizado necropsia : ausência de sinais de sangramento, lesão pulmonar e lesão cardíaca.

**Animal SHAM SE:** óbito aos 1260 min – animal considerado útil ao experimento, dados clínicos nos resultados dos animais utilizados.

## 6.1: Resultados de dados clínicos e hemodinâmicos

### ANIMAL 1: Animal toracotomia 1 – Sem estímulo ( AT1SE)

Data: 15/03/16 e 16/03/16

Duração total : 24 hs

Cirurgia: Toracotomia sem estímulo do nervo vago

Peso: 45 kg

Sexo: Macho

Tempo 0	FC: 85
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 110 x 62 mmhg
	PAM: 78
	Sat O2: 100%
	Temp: 37,8 °C
	PAP: 23
	DC: 3,1
Tempo 1	FC: 73
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 112 x 55 mmhg
	PAM: 72

	Sat O2: 100%
	Temp: 39,2 ° C
	PAP: 20
	DC:5,2
Tempo 2	FC: 100
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 111 x 61 mmhg
	PAM: 77
	Sat O2: 100%
	Temp: 36,1 ° C
	PAP: 20
	DC: 5,2
Tempo 3	FC: 110
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 110 x 56mmhg
	PAM: 73
	Sat O2: 100%
	Temp: 40, 9° C
	PAP: 19
	DC: 4,5
Tempo 4	FC: 94
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 91 x 64mmhg
	PAM: 71
	Sat O2: 100 %
	Temp: 39, 8 ° C
	PAP: 18
	DC: 4,5
Tempo 5	FC: 78
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 101 x 45 mmhg
	PAM: 60
	Sat O2: 100 %
	Temp: 39 , 7 ° C
	PAP: 17
	DC:4,6
Tempo 6	FC: 77
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 109 x 46mmhg
	PAM: 63
	Sat O2: 100%
	Temp: 39, 9° C
	PAP: 20
	DC:4,5

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 760 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs
- OBS: Animal evoluiu com taquicardia – fibrilação ventricular, sendo utilizado lidocaína EV, evoluindo com choque e uso de noradrenalina por 4 horas.

**ANIMAL 2: Animal Toracotomia 2 – Sem estímulo (AT2SE)**

Data: 14/06/16 e 15/06/16

Duração total : 24 hs

Cirurgia: Toracotomia com estímulo do nervo vago

Peso: 42 kg

Sexo: Macho

Tempo 0	FC: 48
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 135 x 86 mmhg
	PAM: 106
	Sat O2: 100%
	Temp: 34,9 °C
	PAP: 11 (17 -8)
	DC: 2,7
	PVC: 8
Tempo 1	FC: 46
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 137x88 mmhg
	PAM: 105
	Sat O2: 100%
	Temp: 37, 3° C
	PAP: 12 (16 -9)
	DC:2,2
	PVC: 10
Tempo 2	FC: 67
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 147 x 84 mmhg
	PAM: 105
	Sat O2: 100%
	Temp: 38,5 ° C
	PAP: 12 (16 -8)
	DC: 3,2
	PVC: 9
Tempo 3	FC: 62
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 133 x 73 mmhg
	PAM: 94
	Sat O2: 100%
	Temp: 39, 2° C
	PAP: 14 ( 19 -10)
	DC: 3,0
	PVC: 14
Tempo 4	FC: 62
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 120 x 88 mmhg
	PAM: 98
	Sat O2: 100 %
	Temp: 38 ° C
	PAP: -
	DC: 3,3
	PVC: -
Tempo 5	FC: 60
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 106 x 68 mmhg
	PAM: 82
	Sat O2: 100 %
	Temp: 39,3 ° C
	PAP: 23 ( 33 -16)
	DC: 2,8

	PVC: 13
Tempo 6	FC: 60
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 115 x 82 mmhg
	PAM: 92
	Sat O2: 100%
	Temp: 39,4 ° C
	PAP: 23 (32 -16)
	DC: 2,8
	PVC: 13

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 1000 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs
- OBS: Bradicardia persistente e uso de atropina, hipotensão com necessidade de uso de nora por cerca de 3 h e 30 min.

### **ANIMAL 3: Animal Toracotomia 3 – Sem estímulo (AT3SE)**

Data: 29/08/16 e 30/08/16

Duração total : 24 hs

Cirurgia: Toracotomia sem estímulo do nervo vago

Peso: 50 kg

Sexo: Macho

Tempo 0	FC: 90
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 94 x 64 mmhg
	PAM: 77
	Sat O2: 100%
	Temp: 36,8°C
	PAP: 22 (29 – 15)
	DC: 4,8
	PVC: 8
Tempo 1	FC: 57
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 107x 65mmhg
	PAM: 81
	Sat O2: 99 %
	Temp: 37, 6 ° C
	PAP: 23 (30 - 18)
	DC: 5,2
	PVC: 10
Tempo 2	FC: 52
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 101 x 53mmhg
	PAM: 69
	Sat O2: 96 %
	Temp: 37,2 ° C
	PAP: 24 (33 - 16)
	DC: 4,2
	PVC: 9

Tempo 3	FC: 108
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 84 x 60mmhg
	PAM: 70
	Sat O2: 98%
	Temp: 39, 2° C
	PAP: 24 ( 31 -19)
	DC: 4,4
	PVC: 9
Tempo 4	FC: 93
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 80 x 58 mmhg
	PAM: 67
	Sat O2: 98 %
	Temp: 38 ° C
	PAP: 23 (29 -18)
	DC: 4,3
	PVC: 8
Tempo 5	FC: 68
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 94 x 68 mmhg
	PAM: 77
	Sat O2: 99 %
	Temp: 39,4 ° C
	PAP: 22 ( 28 -18)
	DC: 3,8
	PVC: 9
Tempo 6	FC: 54
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 80 x 54mmhg
	PAM: 63
	Sat O2: 100%
	Temp: 38,6 ° C
	PAP: 23 (29 -17)
	DC: 3,2
	PVC: 9

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 2100 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs
- OBS: Animal apresentou bradicardia persistente e BAV sendo feito uso de atropina em 4 episódios.

**ANIMAL 4: Animal Toracotomia 1 – Com estímulo (AT1CE)**

Data: 05/09/16 e 04/06/16

Duração total : 24 hs

Cirurgia: Toracotomia com estímulo do nervo vago

Peso: 56 kg

Sexo: Macho

Tempo 0	FC: 60
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 121 x 94 mmhg
	PAM: 104
	Sat O2: 100%
	Temp: 35,7 °C
	PAP: 21 (31 - 13)
	DC: 3,5
	PVC: 6
Tempo 1	FC: 72
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 129 x 89 mmhg
	PAM: 100
	Sat O2: 100%
	Temp: 39, 8° C
	PAP: 21 (33 - 10)
	DC: 5,0
	PVC: 8
Tempo 2	FC: 71
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 132 x 88 mmhg
	PAM: 103
	Sat O2: 100%
	Temp: 40,1 ° C
	PAP: 20 (33 - 10)
	DC: 5,1
	PVC: 7
Tempo 3	FC: 59
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 123 x 79mmhg
	PAM: 95
	Sat O2: 100%
	Temp: 39, 2° C
	PAP: 19 ( 31 -10)
	DC: 3,7
	PVC: 8
Tempo 4	FC: 66
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 131 x 84mmhg
	PAM: 99
	Sat O2: 100 %
	Temp: 39,6 ° C
	PAP: 20 (25 – 12)
	DC: 4,7
	PVC: 8
Tempo 5	FC: 61
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 127 x 80mmhg
	PAM: 96
	Sat O2: 100 %
	Temp: 39,5 ° C
	PAP: 19 ( 31 -7)
	DC: 4,5



	PVC: 8
Tempo 6	FC: 52
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 113 x 77mmhg
	PAM: 89
	Sat O2: 100%
	Temp: 39,1 ° C
	PAP: 19 (27 -11)
	DC: 3,8
	PVC: 8

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 1000 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs

#### **ANIMAL 5: Animal Toracotomia 4 – Sem estímulo (AT4SE)**

Data: 18/10/16 e 19/10/16

Duração total : 24 hs

Cirurgia: Toracotomia sem estímulo do nervo vago

Macho

Peso:41 kg

Tempo 0	FC: 39
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 120 x 75 mmhg
	PAM: 92
	Sat O2: 99%
	Temp: 34,1 ° C
	PAP: 29 (41 - 15)
	DC: 2,4
	PVC: 15
Tempo 1	FC: 75
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 138 x 95 mmhg
	PAM: 115
	Sat O2: 97%
	Temp: 38,1 ° C
	PAP: 16 (21 - 14)
	DC: 3,9
	PVC: 14
Tempo 2	FC: 62
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 138 x 95mmhg
	PAM: 111
	Sat O2: 99 %
	Temp: 37,7 ° C
	PAP: 23 ( 30 – 16)
	DC: 3,0
	PVC: 15
Tempo 3	FC:55
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 105 x 80mmhg
	PAM: 93
	Sat O2: 98 %

	Temp: 37,7 ° C
	PAP: 19 (27 x 18)
	DC: 2,2
	PVC: 19
Tempo 4	FC: 55
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 113 x 79mmhg
	PAM: 92
	Sat O2: 99 %
	Temp: 38,3° C
	PAP: 20 (30 x 13)
	DC: 2,1
	PVC: 19
Tempo 5	FC: 58
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 106 x 79mmhg
	PAM: 63
	Sat O2: 99 %
	Temp: 39° C
	PAP: 20 ( 24 x 17)
	DC: 2,9
	PVC: 11
Tempo 6	FC: 47
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 113 x 79 mmhg
	PAM: 94
	Sat O2: 99%
	Temp: 38,6 ° C
	PAP: 13 (18 x 9)
	DC: 2,3
	PVC: 14

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 800 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs
- OBS: Animal apresentou bradicardia e BAV 2º grau em 4 episódios sendo necessário uso de atropina frequente.

### **ANIMAL 6: Animal Toracotomia 5 – Sem estímulo (AT5SE)**

Data: 09/01/17 e 10/01/17

Duração total : 24 hs

Cirurgia: Toracotomia sem estímulo do nervo vago

Macho

Peso: 51 kg

Tempo 0	FC: 89
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 118 x 85mmhg
	PAM: 101
	Sat O2: 100%
	Temp: 37,6°C
	PAP: 37 (44 - 25)

	DC: 4,1
	PVC: 11
Tempo 1	FC: 66
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 144 x 81mmhg
	PAM: 102
	Sat O2: 100%
	Temp: 39,4° C
	PAP: 27 (31 - 20)
	DC: 4,2
	PVC: 13
Tempo 2	FC: 62
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 132 x 77mmhg
	PAM: 96
	Sat O2: 100%
	Temp: 40,1 ° C
	PAP: 30 (39 x 20)
	DC: 3,8
	PVC: 12
Tempo 3	FC: 82
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 138 x 83mmhg
	PAM: 102
	Sat O2: 100%
	Temp: 40,4 ° C
	PAP: 29 ( 34 x 21)
	DC: 4,6
	PVC: 10
Tempo 4	FC: 98
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 136 x 94mmhg
	PAM: 110
	Sat O2: 100 %
	Temp: 40,7° C
	PAP: 47 ( 56 x 36)
	DC: 5,0
	PVC: 13

- 
- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 600 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs
- OBS: Animal apresentou PCR em fibrilação ventricular durante a indução anestésica, feito cardioversão com 200 joules com retorno de ritmo, iniciado noradrenalina 40 mcg/kg e amiodarona. Bradicardia persistente com utilização de 4 doses de atropina , choque no tempo de 19 h de cirurgia , uso de noradrenalina seguido de óbito com 21 h de experimento.

**ANIMAL 7: Animal Toracotomia 2 – Com estímulo (AT2CE)**

Data: 24/01/18 e 25/01/18

Duração total : 24 hs

Cirurgia: Toracotomia com estímulo do nervo vago

Macho

Peso: 46 kg

Tempo 0	FC: 44
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 99 x 40 mmhg
	PAM: 59
	Sat O2: 100%
	Temp: 36,5 °C
	PAP: 29 (40 – 16)
	DC: 2,6
	PVC: 6
Tempo 1	FC: 54
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 111 x 48mmhg
	PAM: 69
	Sat O2: 100%
	Temp: 38,7 °C
	PAP: 21 (28 - 13)
	DC: 3,0
	PVC: 6
Tempo 2	FC: 59
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 92 x 48mmhg
	PAM: 65
	Sat O2: 100%
	Temp: 38,8 °C
	PAP: 19 ( 25 x 12)
	DC: 3,2
	PVC: 4
Tempo 3	FC: 74
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 95 x 52 mmhg
	PAM: 68
	Sat O2: 100%
	Temp: 39,3 °C
	PAP: 23 (26 x 18)
	DC: 3,2
	PVC: 5
Tempo 4	FC: 71
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 97 x 57mmhg
	PAM: 67
	Sat O2: 100 %
	Temp: 40 °C
	PAP: 23 (26 x 17)
	DC: 2,9
	PVC: 4
Tempo 5	FC: 84
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 99 x 42mmhg
	PAM: 62
	Sat O2: 100 %
	Temp: 40 °C
	PAP: 28 ( 35 x 18)
	DC: 3,2

	PVC: 4
Tempo 6	FC: 83
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 108 x 39 mmhg
	PAM: 65
	Sat O2: 100%
	Temp: 37,9 ° C
	PAP: 36 ( 42 x 30)
	DC: 5,4
	PVC: 5

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 600 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs

### **ANIMAL 8: Animal Toracotomia 6 – Sem estímulo (AT6SE)**

Data: 06/02/17 e 07/02/17

Duração total : 24 hs

Cirurgia: Toracotomia sem estímulo do nervo vago

Macho

Peso: 52,5kg

Tempo 0	FC: 67
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 106 x 49 mmhg
	PAM: 70
	Sat O2: 100%
	Temp: 35,5 °C
	PAP:
	DC:
	PVC:
Tempo 1	FC: 55
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 114 x 58mmhg
	PAM: 77
	Sat O2: 100%
	Temp: 36 ° C
	PAP:
	DC:
	PVC:
Tempo 2	FC: 84
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 109 x 57mmhg
	PAM: 74
	Sat O2: 100%
	Temp: 37 ° C
	PAP: -
	DC: -
	PVC: -
Tempo 3	FC: 83
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 112 x 60mmhg
	PAM: 76
	Sat O2: 100%
	Temp: 39,9 ° C

	PAP: -
	DC: -
	PVC: -
Tempo 4	FC: 91
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 110 x 58mmhg
	PAM: 75
	Sat O2: 100 %
	Temp: 40,6° C
	PAP: -
	DC: -
	PVC: -
Tempo 5	FC: 77
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 99 x 54mmhg
	PAM: 66
	Sat O2: 100 %
	Temp: 40,6 ° C
	PAP: -
	DC: -
	PVC: -
Tempo 6	FC: 74
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 100 x 68 mmhg
	PAM: 77
	Sat O2: 100%
	Temp: 39,8 ° C
	PAP: -
	DC: -
	PVC: -

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 600 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs
- OBS: Durante passagem de Swan-Ganz houve arritmia, feito amiodarona e optado pela retirada do mesmo. Ocorreu vários episódios de bradicardia e BAV 2º grau sendo usado atropina nesses episódios.

### **ANIMAL 9: Animal Toracotomia 3 – Com estímulo (AT3CE)**

Data: 20/02/17 e 21/02/17

Duração total : 24 hs

Cirurgia: Toracotomia com estímulo do nervo vago

Macho

Peso: 46 kg

Tempo 0	FC: 50
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 93 x 59 mmhg
	PAM: 70
	Sat O2: 100%
	Temp: 33, 8 °C

	PAP: 27 (35 - 18)
	DC: 2,6
	PVC: 13
Tempo 1	FC: 46
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 116 x 72 mmhg
	PAM: 87
	Sat O2: 98 %
	Temp: 36,5° C
	PAP: 21 (29 - 13)
	DC: 2,3
	PVC: 13
Tempo 2	FC: 79
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 115 x 76 mmhg
	PAM: 90
	Sat O2: 96%
	Temp: 38,6 ° C
	PAP: 27 (29 x 22)
	DC: 3,0
	PVC: 13
Tempo 3	FC: 86
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 105 x 65 mmhg
	PAM: 78
	Sat O2: 96 %
	Temp: 38,8 ° C
	PAP: 25 ( 28 x 20)
	DC: 2,4
	PVC: 13
Tempo 4	FC: 62
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 105 x 63 mmhg
	PAM: 78
	Sat O2: 98 %
	Temp: 39,5 ° C
	PAP: 24 (27 x20)
	DC: 2,2
	PVC: 14
Tempo 5	FC: 60
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 109 x 61 mmhg
	PAM: 77
	Sat O2: 100 %
	Temp: 39,5 ° C
	PAP: 24 (28 x 20)
	DC: 2,2
	PVC: 13
Tempo 6	FC: 67
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 104 x 58mmhg
	PAM: 71
	Sat O2: 99 %
	Temp: 39,2 ° C
	PAP: 28 ( 32 x 25)
	DC: 2,4
	PVC: 13

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 600 ml / 24 hs

- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs
- OBS: Animal apresentou hipotensão antes do início da cirurgia, colocado nora 10 ml/h e desligado 1 h após o término da cirurgia

### **ANIMAL 10: Animal Toracotomia 4 – Com estímulo (AT4CE)**

Data: 20/03/17 e 21/03/17

Duração total : 24 hs

Cirurgia: Toracotomia com estímulo do nervo vago

Macho

Peso: 49,8 kg

Tempo 0	FC: 58
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 102 x 58mmhg
	PAM: 82
	Sat O2: 98 %
	Temp: 34,5°C
	PAP: 28 (36 - 18)
	DC: 3,8
	PVC: 9
Tempo 1	FC: 60
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 117 x 72mmhg
	PAM: 87
	Sat O2: 100%
	Temp: 38,1 ° C
	PAP: 21 (27 - 13)
	DC: 3,4
	PVC: 10
Tempo 2	FC: 73
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 100 x 69mmhg
	PAM: 83
	Sat O2: 100%
	Temp: 38,5 ° C
	PAP: 22 ( 29 x 10)
	DC: 4,2
	PVC: 10
Tempo 3	FC: 76
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 121 x 68mmhg
	PAM: 86
	Sat O2: 100%
	Temp: 39,5 ° C
	PAP: 24 ( 30 x 18)
	DC: 4,3
	PVC: 9
Tempo 4	FC: 67
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 121 x 67mmhg
	PAM: 83
	Sat O2: 100 %
	Temp: 39, 7 ° C
	PAP: 24 ( 31 x 18)



	DC: 3,9
	PVC: 10
Tempo 5	FC: 65
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 124 x 68mmhg
	PAM: 85
	Sat O2: 99 %
	Temp: 39,7 ° C
	PAP: 26 ( 33 x 19)
	DC: 10
	PVC: 10
Tempo 6	FC: 56
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 118 x 68mmhg
	PAM: 85
	Sat O2: 99 %
	Temp: 38,8 ° C
	PAP: 26 (30 x 20)
	DC: 3,1
	PVC: 10

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 600 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs

### **ANIMAL 11: Animal Toracotomia 5 – Com estímulo (AT5CE)**

Data: 15/05/17 e 16/05/17

Duração total : 24 hs

Cirurgia: Toracotomia com estímulo do nervo vago

Macho

Peso:48 kg

Tempo 0	FC: 71
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 135 x 92 mmhg
	PAM: 109
	Sat O2: 99 %
	Temp: 37,7 °C
	PAP: 34 (46 - 25)
	DC: 3,4
	PVC: 12
Tempo 1	FC: 59
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 127 x 85 mmhg
	PAM: 100
	Sat O2: 99%
	Temp: 38 ° C
	PAP: 32 (41 - 24)
	DC: 4,6
	PVC: 12
Tempo 2	FC: 84
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 120 x 70 mmhg
	PAM: 88

	Sat O2: 94%
	Temp: 39 ° C
	PAP: 33 ( 45 x 23)
	DC: 5,8
	PVC: 11
Tempo 3	FC: 100
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 112 x 63 mmhg
	PAM: 81
	Sat O2: 91 %
	Temp: 39,5 ° C
	PAP: 28 ( 40 x 19)
	DC: 6,8
	PVC: 7
Tempo 4	FC: 90
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 98 x 44 mmhg
	PAM: 65
	Sat O2: 87 %
	Temp: 39,1 ° C
	PAP: 29 ( 36 x 21)
	DC: 6,6
	PVC: 8
Tempo 5	FC: 66
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 89 x 43 mmhg
	PAM: 57
	Sat O2: 96 %
	Temp: 39,5 ° C
	PAP: 26 ( 34 x 18)
	DC: 4,5
	PVC: 9
Tempo 6	FC: 67
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 92 x 45 mmhg
	PAM: 57
	Sat O2: 96 %
	Temp: 39,3 ° C
	PAP: 25 ( 35 x 12)
	DC: 4,9
	PVC: 14

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 600 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs

### **ANIMAL 12: Animal Toracotomia 6 – Com estímulo (AT6CE)**

Data: 22/05/18 e 23/05/18

Duração total : 24 hs

Cirurgia: Toracotomia com estímulo do nervo vago

Macho

Peso: 48kg

Tempo 0	FC: 52
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 128 x 71mmhg
	PAM: 93
	Sat O2: 100%
	Temp: 36,9°C
	PAP: 30 (34 - 24)
	DC: 3,6
	PVC: 9
Tempo 1	FC: 62
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 102 x 71mmhg
	PAM: 84
	Sat O2: 100%
	Temp: 37,6 ° C
	PAP: 24 (27 - 20)
	DC: 4,3
	PVC: 7
Tempo 2	FC: 86
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 132 x 71mmhg
	PAM: 94
	Sat O2: 100%
	Temp: 39,1° C
	PAP: 22 ( 27 x 18)
	DC: 5,9
	PVC: 8
Tempo 3	FC: 73
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 116 x 78mmhg
	PAM: 89
	Sat O2: 100%
	Temp: 39,6 ° C
	PAP: 27 (31 x 23)
	DC: 5,1
	PVC: 9
Tempo 4	FC: 71
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 109 x 75mmhg
	PAM: 84
	Sat O2: 100 %
	Temp: 39,7 ° C
	PAP: 24 ( 28 x 20)
	DC: 5,2
	PVC: 9
Tempo 5	FC: 70
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 110 x 84mmhg
	PAM: 92
	Sat O2: 100 %
	Temp: 39,8 ° C
	PAP: 23 ( 27x 18)
	DC: 5,0
	PVC: 9
Tempo 6	FC: 68
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 121 x 50mmhg
	PAM: 73
	Sat O2: 100%
	Temp: 39,3 ° C
	PAP: 26 ( 30 x 21)
	DC: 4,8
	PVC: 9

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 600 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs

➤ **Resultados clínicos Grupo Robótica sem estímulo**

**ANIMAL 01: Animal Robótica 1 – Sem estímulo (AR1SE)**

Data: 17/07/17 e 18/07/17

Duração total : 24 hs

Cirurgia: Robótica sem estímulo do nervo vago

Macho

Peso: 46 kg

Tempo 0	FC: 72
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 91 x 53mmhg
	PAM: 69
	Sat O2: 94 %
	Temp: 36°C
	PAP: 28 (35 - 20)
	DC: 2,5
	PVC: 7
Tempo 1	FC: 59
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 115 x 66 mmhg
	PAM: 87
	Sat O2: 96 %
	Temp: 36,8 ° C
	PAP: 29 (38 - 20)
	DC: 2,8
	PVC: 7
Tempo 2	FC: 69
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 115 x 85mmhg
	PAM: 97
	Sat O2: 100%
	Temp: 37,1 ° C
	PAP: 27 ( 36 x 17)
	DC: 3,5
	PVC: 6
Tempo 3	FC: 84
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 112 x 62 mmhg
	PAM: 80
	Sat O2: 96%
	Temp: 37,4 ° C
	PAP: 29 ( 37 x 20)
	DC: 3,1
	PVC: 6
Tempo 4	FC: 85
Coleta de 10 ml de sangue	PA:89 x 62mmhg
	PAM: 72

	Sat O2: 94 %
	Temp: 37, 3° C
	PAP: 33 ( 42 x 24 )
	DC: 3,1
	PVC: 8
Tempo 5	FC: 96
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 95 x 50mmhg
	PAM: 68
	Sat O2: 82 %
	Temp: 38,1 ° C
	PAP: 41 ( 51 x 33)
	DC: 3,7
	PVC: 8
Tempo 6	FC: -
Coleta de 10 ml de sangue	PA: -
	PAM: -
	Sat O2: -
	Temp: -
	PSAP: -
	DC: -
	PVC: -

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 600 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs
- OBS: Animal apresentou hipotensão com 16 h de experimento sendo iniciado nora e persistindo até 22 h de experimento quando evoluiu ao óbito.

### **ANIMAL 2: Animal Robótica 2 – Sem estímulo (AR2SE)**

Data: 04/09/17 e 05/09/17

Duração total : 24 hs

Cirurgia: Robótica sem estímulo do nervo vago

Macho

Peso: 47,2 kg

Tempo 0	FC: 58
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 120 x 68mmhg
	PAM: 87
	Sat O2: 100%
	Temp: 37,8°C
	PAP: 29 (40 - 21)
	DC: 4,8
	PVC: 4
Tempo 1	FC: 48
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 115 x 87mmhg
	PAM: 98
	Sat O2: 100%
	Temp: 37, 2 ° C

	PAP: 24(28- 20)
	DC: 3,7
	PVC: 4
Tempo 2	FC: 65
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 116 x 63mmhg
	PAM: 84
	Sat O2: 99 %
	Temp: 37,8 ° C
	PAP: 25 ( 28 x 21)
	DC: 4,7
	PVC: 2
Tempo 3	FC: 63
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 108 x 53mmhg
	PAM: 73
	Sat O2: 100%
	Temp: 38,2 ° C
	PAP: 26 ( 29 x 23)
	DC: 3,6
	PVC: 3
Tempo 4	FC: 72
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 112 x 52 mmhg
	PAM: 66
	Sat O2: 100 %
	Temp: 38,9 ° C
	PAP: 28 ( 30 x 25)
	DC: 3,9
	PVC: 3
Tempo 5	FC: 66
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 115 x 55mmhg
	PAM: 75
	Sat O2: 97 %
	Temp: 39 ° C
	PAP: 33 ( 35 x 30)
	DC: 4,0
	PVC: 4
Tempo 6	FC: 63
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 113 x 67mmhg
	PAM: 83
	Sat O2: 92 %
	Temp: 39,3 ° C
	PAP: 36 ( 39 x 33)
	DC: 4,7
	PVC: 8

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 600 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs
- OBS: Animal apresentou 2 episódios de bradicardia se arritmia, sendo feito atropina 2 vezes.

**ANIMAL 3: Animal Robótica 3 –Sem estímulo (AR3SE)**

Data: 30/10/17 e 31/10/17

Duração total : 24 hs

Cirurgia: Robótica sem estímulo do nervo vago

Macho

Peso: 53,6 kg

Tempo 0	FC: 69
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 110 x 66mmhg
	PAM: 83
	Sat O2: 100%
	Temp: 35,4°C
	PAP: 26 (31 - 22)
	DC: 4,6
	PVC: 8
Tempo 1	FC: 41
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 100 x 56 mmhg
	PAM: 70
	Sat O2: 100%
	Temp: 37, 3° C
	PAP: 19 (21 - 14)
	DC: 3,2
	PVC: 12
Tempo 2	FC: 49
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 110 x 57mmhg
	PAM: 76
	Sat O2: 100%
	Temp: 36,2 ° C
	PAP: -
	DC: 4,6
	PVC: 10
Tempo 3	FC: 45
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 103 x 52 mmhg
	PAM: 69
	Sat O2: 100%
	Temp: 36,1 ° C
	PAP: -
	DC: -
	PVC: 10
Tempo 4	FC: 55
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 98 x 48mmhg
	PAM: 64
	Sat O2: 100 %
	Temp: 36,4° C
	PAP: -
	DC: -
	PVC: 10
Tempo 5	FC: 57
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 103 x 51 mmhg
	PAM: 67
	Sat O2: 100 %
	Temp: 36,5 ° C
	PAP: -
	DC: -

	PVC: 9
Tempo 6	FC: 60
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 100 x 49 mmhg
	PAM: 64
	Sat O2: 100%
	Temp: 38,2 ° C
	PAP: -
	DC: -
	PVC: 8

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 600 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs
- OBS: Animal apresentou bradicardia com arritmia BAV 2º grau em 4 episódios sendo feito atropina

#### **ANIMAL 4: Animal Robótica 4 – Sem estímulo (AR4SE)**

Data: 11/12/17 e 12/12/17

Duração total : 24 hs

Cirurgia: Robótica sem estímulo do nervo vago

Macho

Peso: 51 kg

Tempo 0	FC: 45
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 105 x 55mmhg
	PAM: 74
	Sat O2: 100%
	Temp: 35,3°C
	PAP: 17 (26 - 7)
	DC: 3,3
	PVC: 7
Tempo 1	FC: 71
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 138 x 83mmhg
	PAM: 107
	Sat O2: 100%
	Temp: 34,7 ° C
	PAP: 19 (23 - 13)
	DC: 4,0
	PVC: 6
Tempo 2	FC: 43
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 100 x 47mmhg
	PAM: 65
	Sat O2: 100%
	Temp: 36,1 ° C
	PAP: 28 ( 31 x 25)
	DC: 3,4
	PVC: 7
Tempo 3	FC: 62



Coleta de 10 ml de sangue	PA: 88 x 54mmhg
	PAM: 68
	Sat O2: 96 %
	Temp: 38,9 ° C
	PAP: 24 ( 28 x 19)
	DC: 4,4
	PVC: 7
Tempo 4	FC: 64
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 91 x 47mmhg
	PAM: 61
	Sat O2: 95 %
	Temp: 39,8° C
	PAP: 21 ( 23 x 17)
	DC: 4,8
	PVC: 8
Tempo 5	FC: 63
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 85 x 46mmhg
	PAM: 59
	Sat O2: 98 %
	Temp: 40 ° C
	PAP: 22 ( 26 x 45)
	DC:4,6
	PVC: 9
Tempo 6	FC: 63
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 100 x 45mmhg
	PAM: 63
	Sat O2: 96%
	Temp: 39,4 ° C
	PAP: 22( 27 x 17)
	DC: 5,4
	PVC: 10

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 600 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs
- OBS: Utilizado Nora durante a cirurgia e após 2 h desligado.

### **ANIMAL5: Animal Robótica 5 – Sem estímulo (AR5SE)**

Data: 19/02/18 e 20/02/18

Duração total : 24 hs

Cirurgia: Robótica sem estímulo do nervo vago

Macho

Peso: 50 kg

Tempo 0	FC: 50
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 125 x 74mmhg
	PAM: 93
	Sat O2: 100%
	Temp: 36,9°C
	PAP: 33 (43 - 26)

	DC: 4,6
	PVC: 8
Tempo 1	FC: 56
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 116 x 50mmhg
	PAM: 73
	Sat O2: 98%
	Temp: 37, 5 ° C
	PAP: 24 (30 - 16)
	DC: 3,6
	PVC: 7
Tempo 2	FC: 57
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 110 x 47mmhg
	PAM: 68
	Sat O2: 100%
	Temp: 37,9 ° C
	PAP: 25 ( 30 x 21)
	DC: 3,3
	PVC: 6
Tempo 3	FC: 59
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 114 x 45mmhg
	PAM: 66
	Sat O2: 100%
	Temp: 38,6° C
	PAP: 23 ( 27 x 19)
	DC: 3,4
	PVC: 7
Tempo 4	FC: 77
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 109 x 50mmhg
	PAM: 69
	Sat O2: 100 %
	Temp: 40,3° C
	PAP: 23 ( 26 x 20)
	DC: 4,0
	PVC: 6
Tempo 5	FC: 73
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 121 x 55mmhg
	PAM: 75
	Sat O2: 100 %
	Temp: 40,8 ° C
	PAP: 25 ( 28 x 21)
	DC: 3,6
	PVC: 10
Tempo 6	FC: 72
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 122 x 54mmhg
	PAM: 74
	Sat O2: 99%
	Temp: 40,5 ° C
	PAP: 20 ( 25 x 17)
	DC: 3,4
	PVC: 6

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 600 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs
- OBS: Animal apresentou 2episodios de bradicardia sem arritmia sendo necessário uso de atropina..

**ANIMAL 6: Animal Robótica 6 – Sem estímulo (AR6SE)**

Data: 19/03/18 e 20/03/18

Duração total: 24 hs

Cirurgia: Robótica sem estímulo do nervo vago

Macho

Peso: 44 kg

Tempo 0	FC: 71
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 111 x 67mmhg
	PAM: 82
	Sat O2: 98 %
	Temp: 38,5°C
	PAP: 28 (29 - 27)
	DC: 3,8
	PVC: 8
Tempo 1	FC: 75
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 116 x 63mmhg
	PAM: 82
	Sat O2: 100%
	Temp: 39,1 ° C
	PAP: -
	DC: -
	PVC: -
Tempo 2	FC: 87
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 112 x 62 mmhg
	PAM: 78
	Sat O2: 99%
	Temp: 39,9 ° C
	PAP: -
	DC: -
	PVC: -
Tempo 3	FC: 81
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 105 x 54mmhg
	PAM: 70
	Sat O2: 98%
	Temp: 39,8° C
	PAP: -
	DC: -
	PVC: -
Tempo 4	FC: 77
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 99 x 47mmhg
	PAM: 62
	Sat O2: 97 %
	Temp: 39,1° C
	PAP: -
	DC: -
	PVC: -
Tempo 5	FC: 74
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 99 x 46mmhg
	PAM: 62
	Sat O2: 98 %
	Temp: 39,5° C
	PAP: -
	DC: -

	PVC: -
Tempo 6	FC: 76
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 114 x 50mmhg
	PAM: 71
	Sat O2: 98%
	Temp: 38,5 ° C
	PAP: -
	DC: -
	PVC: -

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 600 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs
- OBS: Animal apresentou hipotensão sendo necessário uso de nora do início da cirurgia até 4 h o término. Retirado Swan-Ganz devido a presença de arritmia.

### **ANIMAL 7: Animal Robótica 1 – Com estímulo (AR1CE)**

Data: 14/05/18 e 15/05/18

Duração total: 24 hs

Cirurgia: Robótica com estímulo do nervo vago

Macho

Peso: 47kg

Tempo 0	FC: 75
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 146 x 100 mmhg
	PAM: 120
	Sat O2: 100 %
	Temp: 36 °C
	PAP: 31 (36 - 24)
	DC: -
	PVC: 6
Tempo 1	FC: 42
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 111 x 64 mmhg
	PAM: 82
	Sat O2: 100%
	Temp: 38 ° C
	PAP: 26 (30 x 22)
	DC: -
	PVC: 7
Tempo 2	FC: 52
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 97 x 76 mmhg
	PAM: 80
	Sat O2: 100 %
	Temp: 38,8 ° C
	PAP: 21 (29 x 15)
	DC: -
	PVC: 6

Tempo 3	FC: 66
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 137 x 65 mmhg
	PAM: 89
	Sat O2: 100 %
	Temp: 39,6 ° C
	PAP: 21 ( 31 x 14)
	DC: -
	PVC: 6
Tempo 4	FC: 76
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 97 x 70 mmhg
	PAM: 79
	Sat O2: 98 %
	Temp: 41° C
	PAP: 21 ( 29 x 15)
	DC: -
	PVC: 6
Tempo 5	FC: 75
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 142 x 62 mmhg
	PAM: 96
	Sat O2: 100 %
	Temp: 41,1 ° C
	PAP: 19 ( 27 x 14)
	DC: -
	PVC: 7
Tempo 6	FC: 46
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 103 x 77 mmhg
	PAM: 88
	Sat O2: 100 %
	Temp: 39,4 ° C
	PAP: 20 ( 28 x 12)
	DC: -
	PVC: 7

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 1100 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs
- OBS: Feito 1 amp de atropina antes do início da cirurgia e 1 amp ao término da cirurgia. O monitor de DC não funcionou.

### **ANIMAL 8: Animal Robótica 2 – Com estímulo (AR2CE)**

Data: 11/06/18 e 17/06/18

Duração total: 24 hs

Cirurgia: Robótica com estímulo do nervo vago

Macho

Peso: 42 kg

Tempo 0	FC: 55
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 108 x 66 mmhg
	PAM: 82

	Sat O2: 100 %
	Temp: 34,4 °C
	PAP: 35 (41 - 26)
	DC: NF
	PVC: 12
Tempo 1	FC: 74
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 89 x 61 mmhg
	PAM: 72
	Sat O2: 100%
	Temp: 36,4 ° C
	PAP: 30 ( 35 x 24)
	DC: -
	PVC: 10
Tempo 2	FC: 63
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 91 x 58 mmhg
	PAM: 70
	Sat O2: 100%
	Temp: 36,3 ° C
	PAP: 31 ( 38 x 24)
	DC: -
	PVC: 11
Tempo 3	FC: 85
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 98 x 66 mmhg
	PAM: 78
	Sat O2: 100 %
	Temp: 37, 2 ° C
	PAP: 32 ( 37 x 25)
	DC: -
	PVC: 10
Tempo 4	FC: 117
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 106 x 75 mmhg
	PAM: 90
	Sat O2: 100 %
	Temp: 38,3 ° C
	PAP: 32 (39 x 27)
	DC: -
	PVC: 10
Tempo 5	FC: 134
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 85 x 56 mmhg
	PAM: 67
	Sat O2: 97 %
	Temp: 38,9 ° C
	PAP: 31 ( 39 x 24)
	DC: -
	PVC: 10
Tempo 6	FC: 121
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 90 x 46 mmhg
	PAM: 61
	Sat O2: 98%
	Temp: 40,2° C
	PAP: 32 ( 40 x 26)
	DC: -
	PVC: 11

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 550 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs

- OBS: Animal apresentou hipotensão sendo necessário uso de nora do início da cirurgia até o término, depois religado na 3<sup>o</sup> hora pós cirurgia e mantido contínuo por 12 h. Coletado fragmento de tecido cardíaco para congelar – 80° C e em formol. DC não funcionou.

### **ANIMAL 9: Animal Robótica 3 – Com estímulo (AR3CE)**

Data: 30/07/18 e 31/07/18

Duração total: 24 hs

Cirurgia: Robótica com estímulo do nervo vago

Macho

Peso: 52 kg

Tempo 0	FC: 46
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 127 x 75 mmhg
	PAM: 92
	Sat O2: 100 %
	Temp: 37,7 °C
	PAP: 30 (39 - 22)
	DC: 2,5
	PVC: 8
Tempo 1	FC: 70
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 134 x 76 mmhg
	PAM: 95
	Sat O2: 99 %
	Temp: 39,1 °C
	PAP: 34 ( 43 x 23)
	DC: 3,7
	PVC: 8
Tempo 2	FC: 84
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 123 x 65 mmhg
	PAM: 84
	Sat O2: 94 %
	Temp: 40,4 °C
	PAP: 29 ( 38 x 17)
	DC: 4,3
	PVC: 8
Tempo 3	FC: 92
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 110 x 60 mmhg
	PAM: 76
	Sat O2: 91 %
	Temp: 41,4 °C
	PAP: 32 ( 37 x 25)
	DC: -
	PVC: 8
Tempo 4	FC: 110
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 103 x 48 mmhg
	PAM: 68
	Sat O2: 90 %
	Temp: 43,1 °C
	PAP: 24 (30 x 18)

	DC: -
	PVC: 10
Tempo 5	FC: 145
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 80 x 44 mmhg
	PAM: 63
	Sat O2: 83 %
	Temp: 42,8 ° C
	PAP: 22 ( 31 x 17)
	DC: -
	PVC: 10
Tempo 6	FC: 108
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 76 x 33 mmhg
	PAM: 52
	Sat O2: 94 %
	Temp: 39,5° C
	PAP: 24 ( 32 x 15)
	DC: -
	PVC: 8

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 900 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs
- OBS: Coletado fragmento de tecido cardíaco para congelar – 80° C.

### **ANIMAL 10: Animal Robótica 4 – Com estímulo (AR4CE)**

Data: 13/08/18 e 14/08/18

Duração total: 24 hs

Cirurgia: Robótica com estímulo do nervo vago

Macho

Peso: 46 kg

Tempo 0	FC: 46
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 116 x 61 mmhg
	PAM: 81
	Sat O2: 100 %
	Temp: 32,4 °C
	PAP: 27 (40 - 9)
	DC: 4,2
	PVC: -
Tempo 1	FC: 71
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 89 x 46 mmhg
	PAM: 62
	Sat O2: 96 %
	Temp: 35,3 ° C
	PAP: 22 ( 28 x 17)
	DC: 4,4
	PVC: -
Tempo 2	FC: 80



Coleta de 10 ml de sangue	PA: 83 x 44 mmhg
	PAM: 59
	Sat O2: 97 %
	Temp: 38,6 ° C
	PAP: 22 ( 26 x 18)
	DC: 3,9
	PVC: -
Tempo 3	FC: 97
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 78 x 38 mmhg
	PAM: 54
	Sat O2: 95 %
	Temp: 39,8 ° C
	PAP: 25 ( 28 x 22)
	DC: 4,6
	PVC: -
Tempo 4	FC: 66
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 85 x 39 mmhg
	PAM: 54
	Sat O2: 97 %
	Temp: 39,5 ° C
	PAP: 27 (29 x 22)
	DC: 3,4
	PVC: -
Tempo 5	FC: 51
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 94 x 60 mmhg
	PAM: 60
	Sat O2: 100 %
	Temp: 38,5 ° C
	PAP: 31 ( 35 x 26)
	DC: 2,5
	PVC: -
Tempo 6	FC: 63
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 106 x 46 mmhg
	PAM: 68
	Sat O2: 94%
	Temp: 38,5° C
	PAP: 34 ( 38 x 30)
	DC: 3,3
	PVC: -

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 2000 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs
- OBS: Animal apresentou hipotensão em torno de 21 h de experimento sendo necessário uso de nora 10ml/h até o término. Coletado fragmento de tecido cardíaco para congelar – 80° C e em formol.

### **ANIMAL 11: Animal Robótica 5 – Com estímulo (AR5CE)**

Data: 10/09/18 e 11/09/18

Duração total: 24 hs

Cirurgia: Robótica com estímulo do nervo vago

Macho

Peso: 53 kg

Tempo 0	FC: 59
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 135 x 84 mmhg
	PAM: 101
	Sat O2: 100 %
	Temp: 36,9 °C
	PAP: 27 (34 - 17)
	DC: 4,0
	PVC: -
Tempo 1	FC: 60
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 128 x 80 mmhg
	PAM: 98
	Sat O2: 100%
	Temp: 37,6 ° C
	PAP: 25 ( 28 x 21)
	DC: 3,6
	PVC: -
Tempo 2	FC: 66
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 102 x 77 mmhg
	PAM: 87
	Sat O2: 100%
	Temp: 38,4 ° C
	PAP: 24 ( 28 x 20)
	DC: 3,8
	PVC: -
Tempo 3	FC: 69
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 106 x 66 mmhg
	PAM: 81
	Sat O2: 98 %
	Temp: 38,7 ° C
	PAP: 21 ( 24 x 18)
	DC: 4,0
	PVC: -
Tempo 4	FC: 86
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 96 x 58 mmhg
	PAM: 73
	Sat O2: 99 %
	Temp: 38,7 ° C
	PAP: 22 (24 x 18)
	DC: 5,6
	PVC: -
Tempo 5	FC: 80
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 100 x 60 mmhg
	PAM: 78
	Sat O2: 99 %
	Temp: 38,8 ° C
	PAP: 21 ( 24 x 19)
	DC: 5,1
	PVC: -
Tempo 6	FC: 86
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 108 x 61 mmhg
	PAM: 79
	Sat O2: 98%
	Temp: 40,1° C

	PAP: 22 ( 25 x 18)
	DC: 5,4
	PVC: -

- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 600 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs
- OBS: Coletado fragmento de tecido cardíaco para congelar – 80° C e em formol.

### **ANIMAL 12: Animal Robótica 6 – Com estímulo (AR6CE)**

Data: 04/02/19 e 05/02/19

Duração total: 24 hs

Cirurgia: Robótica com estímulo do nervo vago

Macho

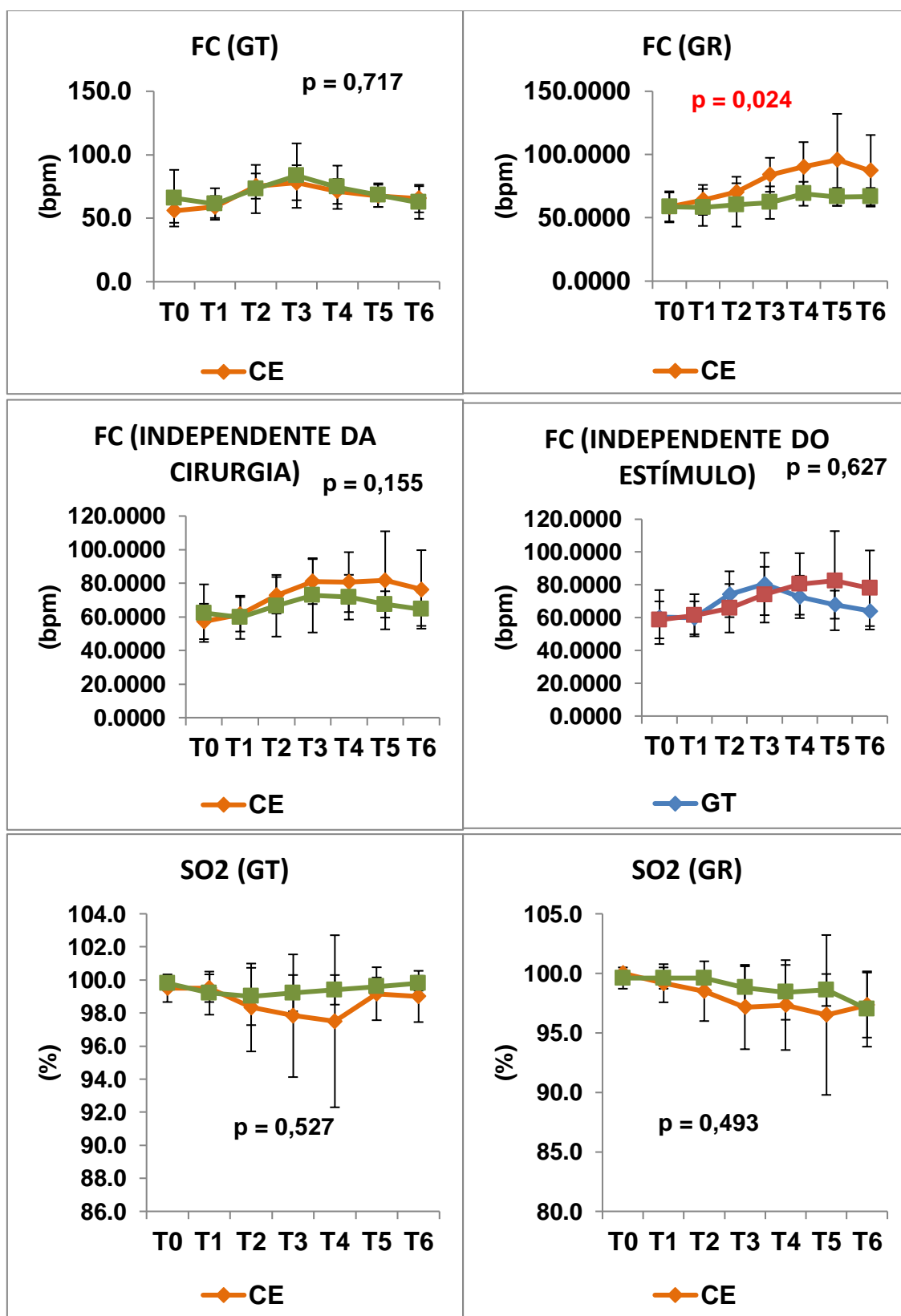
Peso: 44 kg

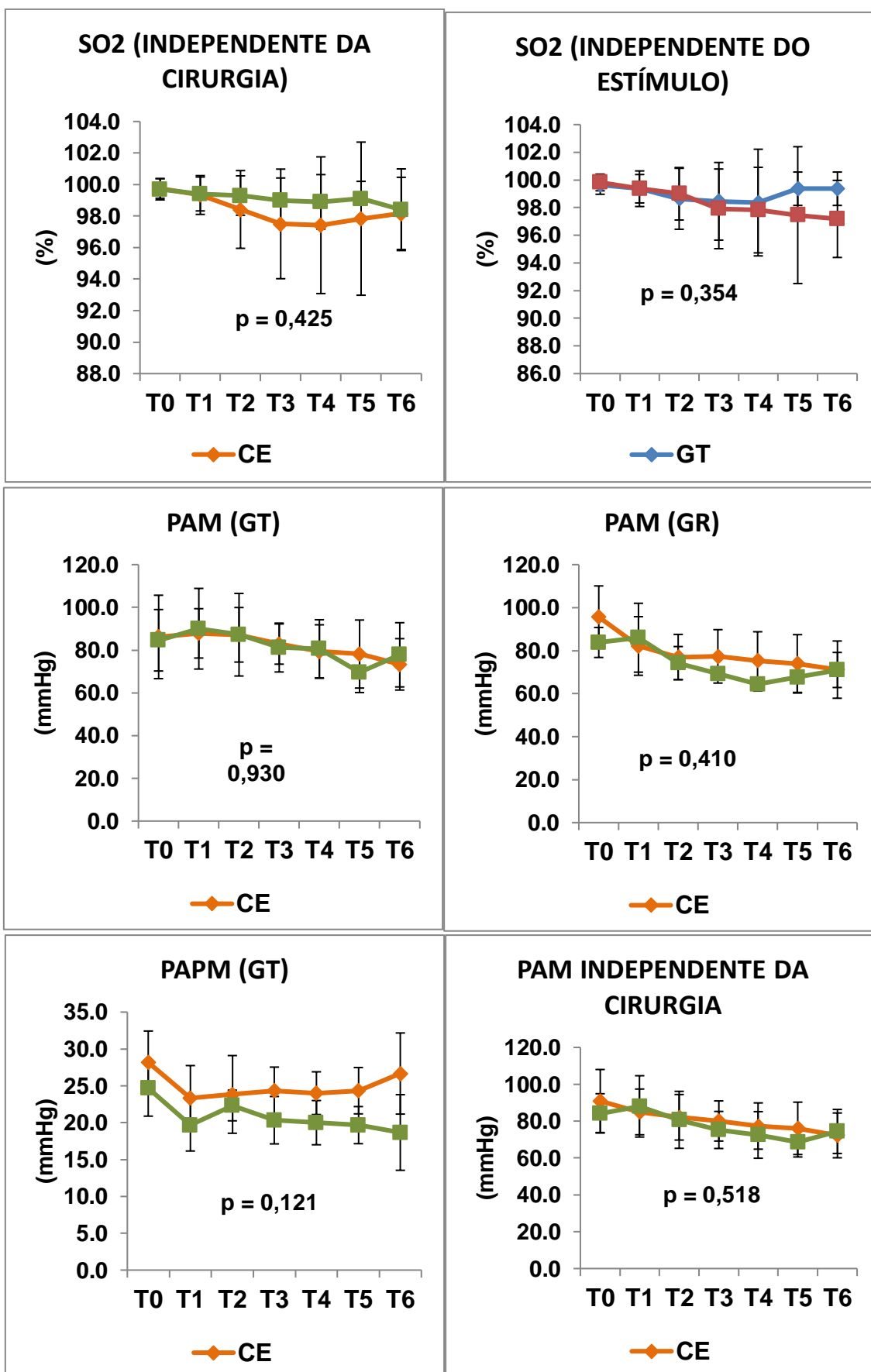
Tempo 0	FC: 71
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 118 x 85 mmhg
	PAM: 98
	Sat O2: 100 %
	Temp: 36,7 °C
	PAP: 21 (27 - 14)
	DC: 4,0
	PVC: 5
Tempo 1	FC: 68
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 1116 x 67 mmhg
	PAM: 84
	Sat O2: 100%
	Temp: 38,2 ° C
	PAP: 18 ( 26 x 10)
	DC: 3,6
	PVC: 5
Tempo 2	FC: 77
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 109 x 68 mmhg
	PAM: 82
	Sat O2: 100%
	Temp: 39,9 ° C
	PAP: 18 ( 26 x 8)
	DC: 4,0
	PVC: 6
Tempo 3	FC: 95
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 108 x 76 mmhg
	PAM: 86
	Sat O2: 99 %
	Temp: 41 ° C
	PAP: 20 ( 29 x 13)
	DC: 4,9
	PVC: 5
Tempo 4	FC: 86
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 110 x 75 mmhg

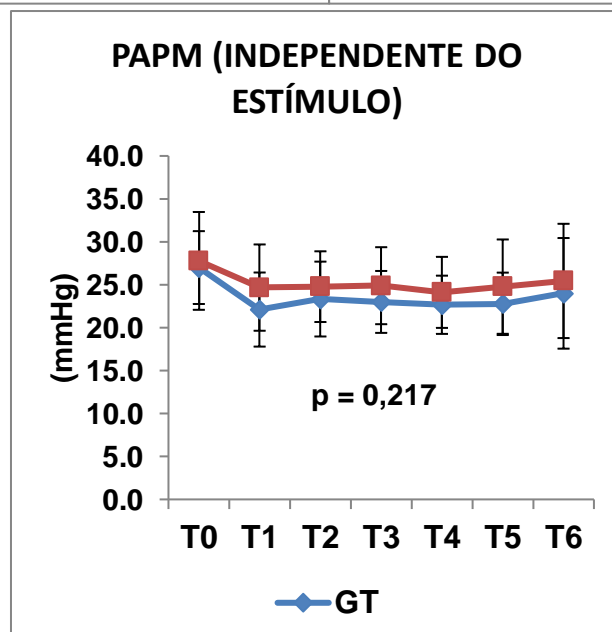
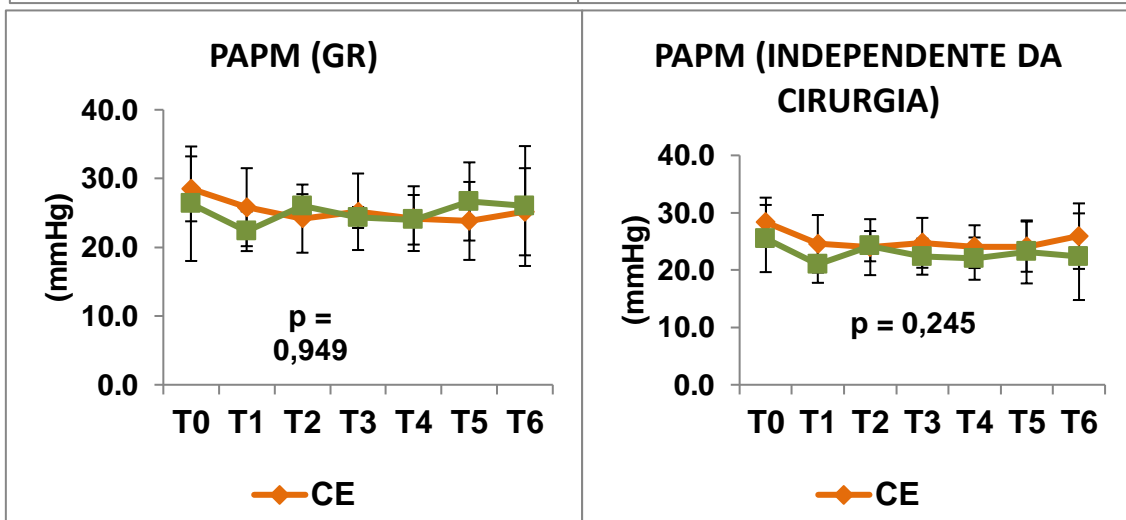
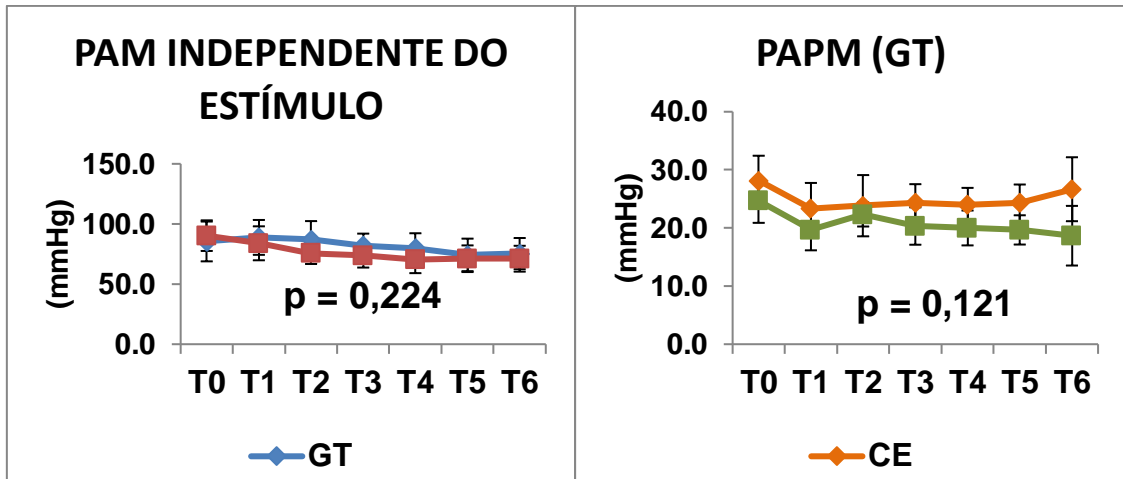
	PAM: 88
	Sat O2: 100 %
	Temp: 41 ° C
	PAP: 19 (28 x 13)
	DC: 4,8
	PVC: 6
Tempo 5	FC: 90
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 100 x 72 mmhg
	PAM: 80
	Sat O2: 100 %
	Temp: 41 ° C
	PAP: 19 ( 27 x 15)
	DC: 5,0
	PVC: 6
Tempo 6	FC: 99
Coleta de 10 ml de sangue	PA: 100 x 70 mmhg
	PAM: 79
	Sat O2: 100%
	Temp: 41,6° C
	PAP: 19 ( 24 x 10)
	DC: 5,1
	PVC: 6

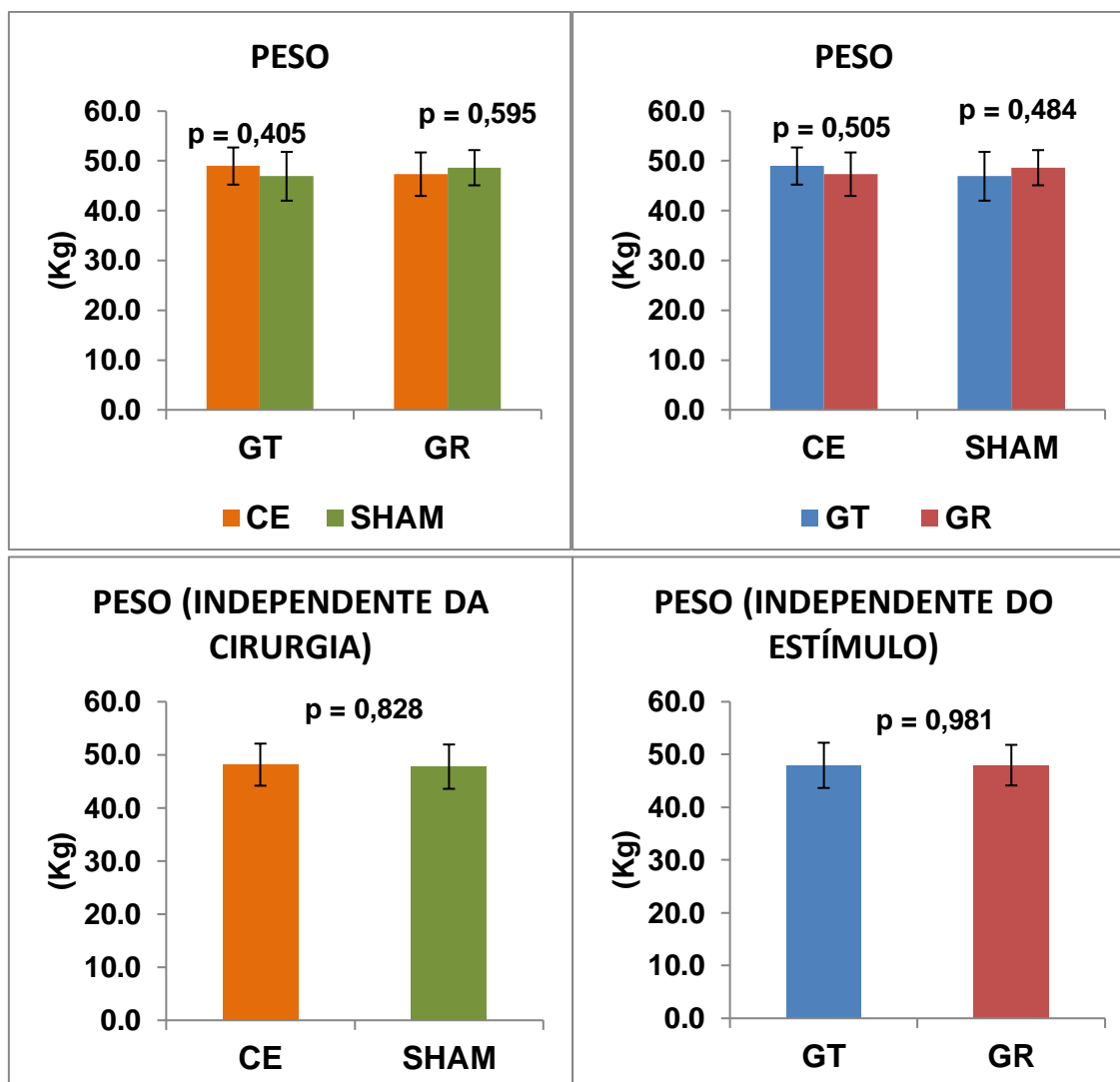
- Amostras de sangue armazenadas em freezer – 80 ° C.
- Diurese ao final do experimento: 800 ml / 24 hs
- Coletas e anotação de dados : 4 / 4 hs
- OBS: Coletado fragmento de tecido cardíaco para congelar – 80° C e em formol.

## RESULTADOS DE TODOS OS DADOS CLÍNICOS, HEMODINÂMICOS E VENTILATÓRIOS



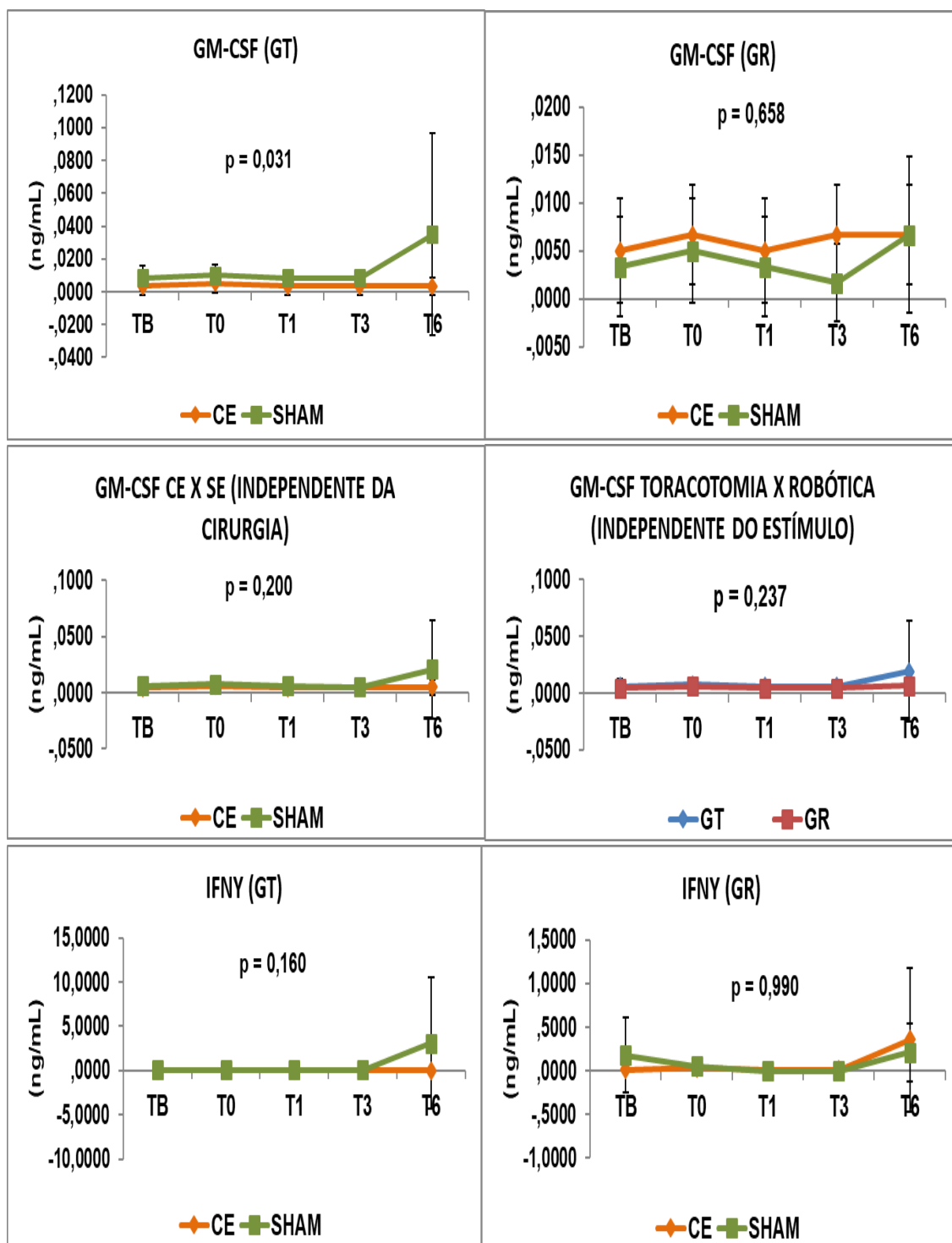


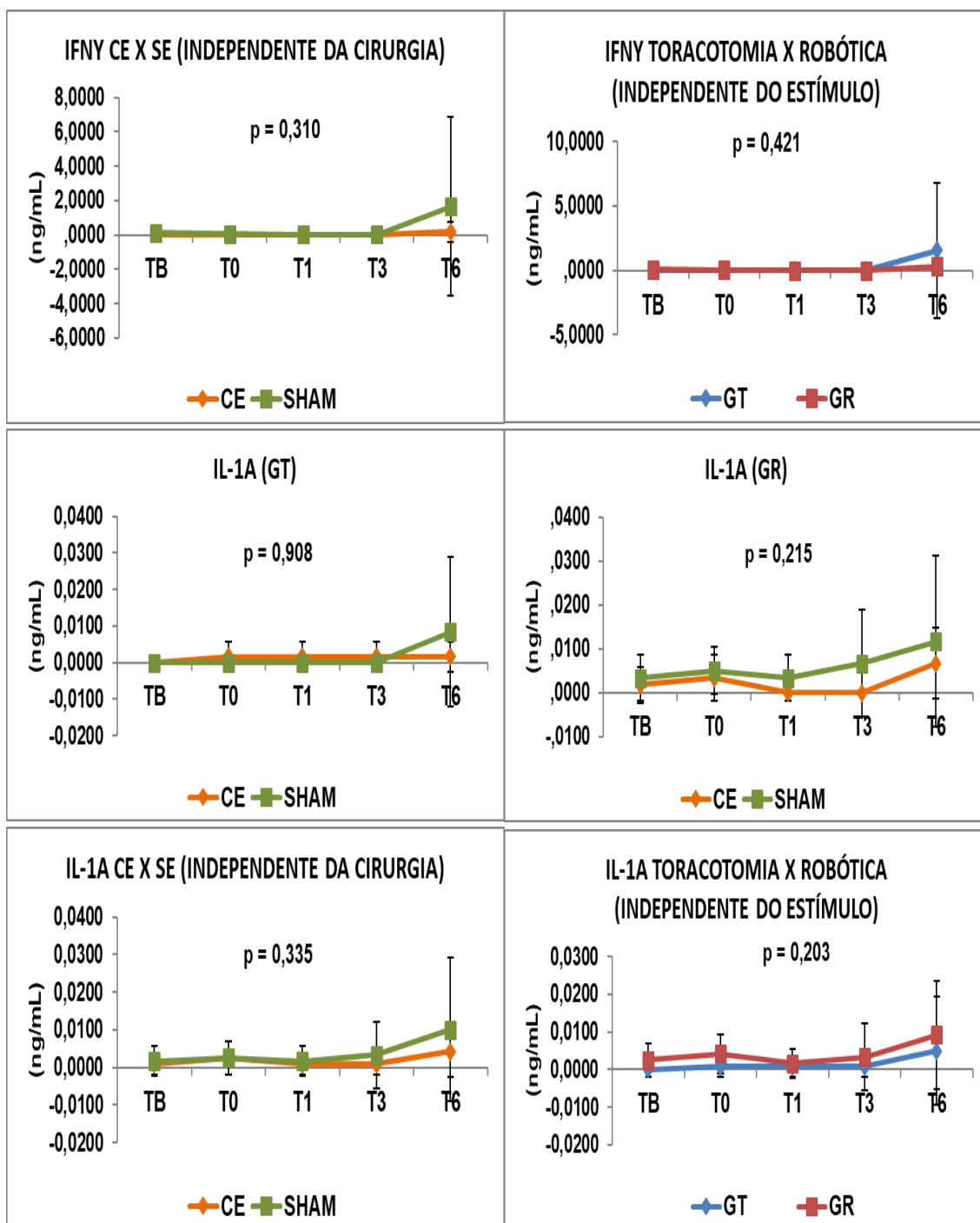


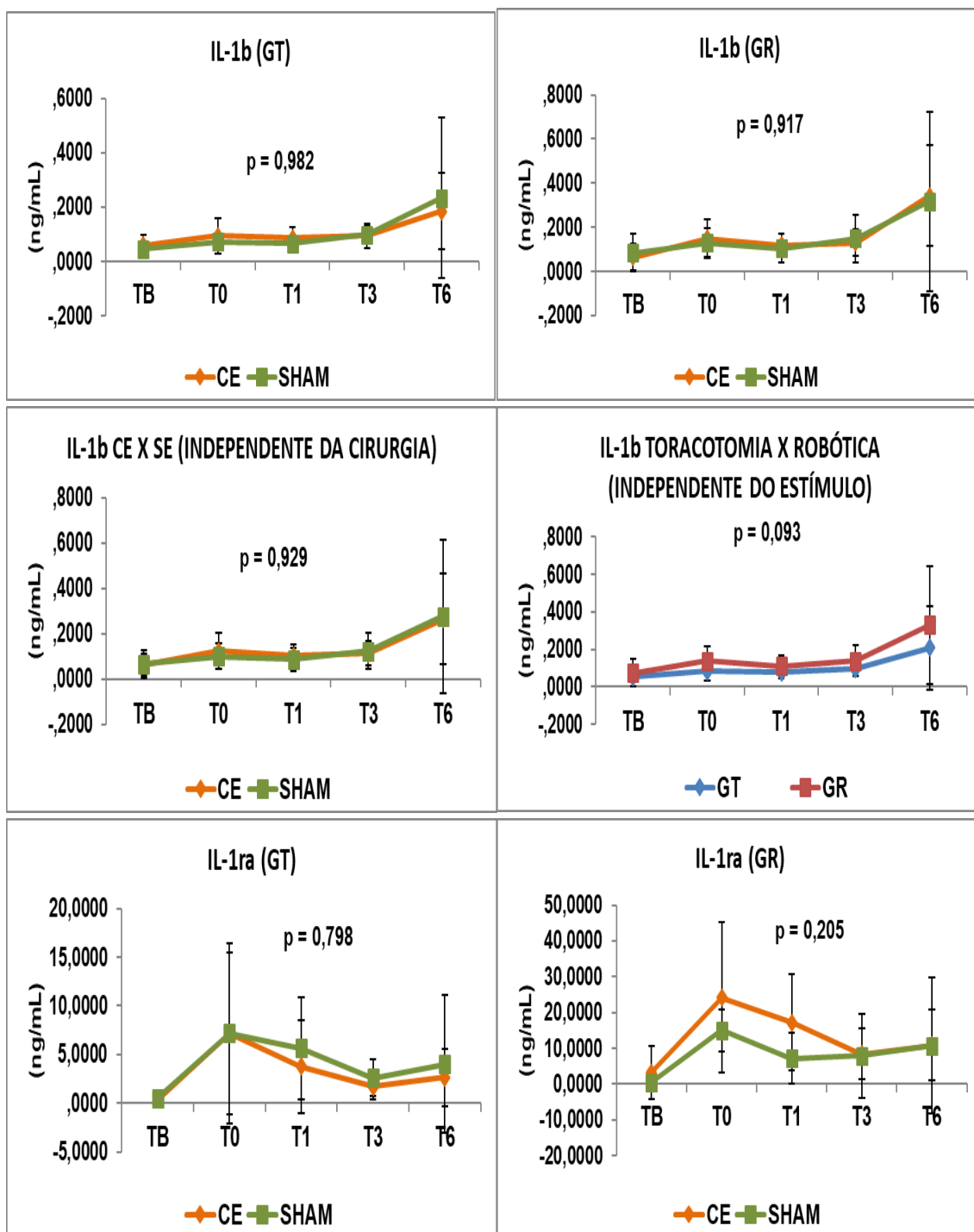


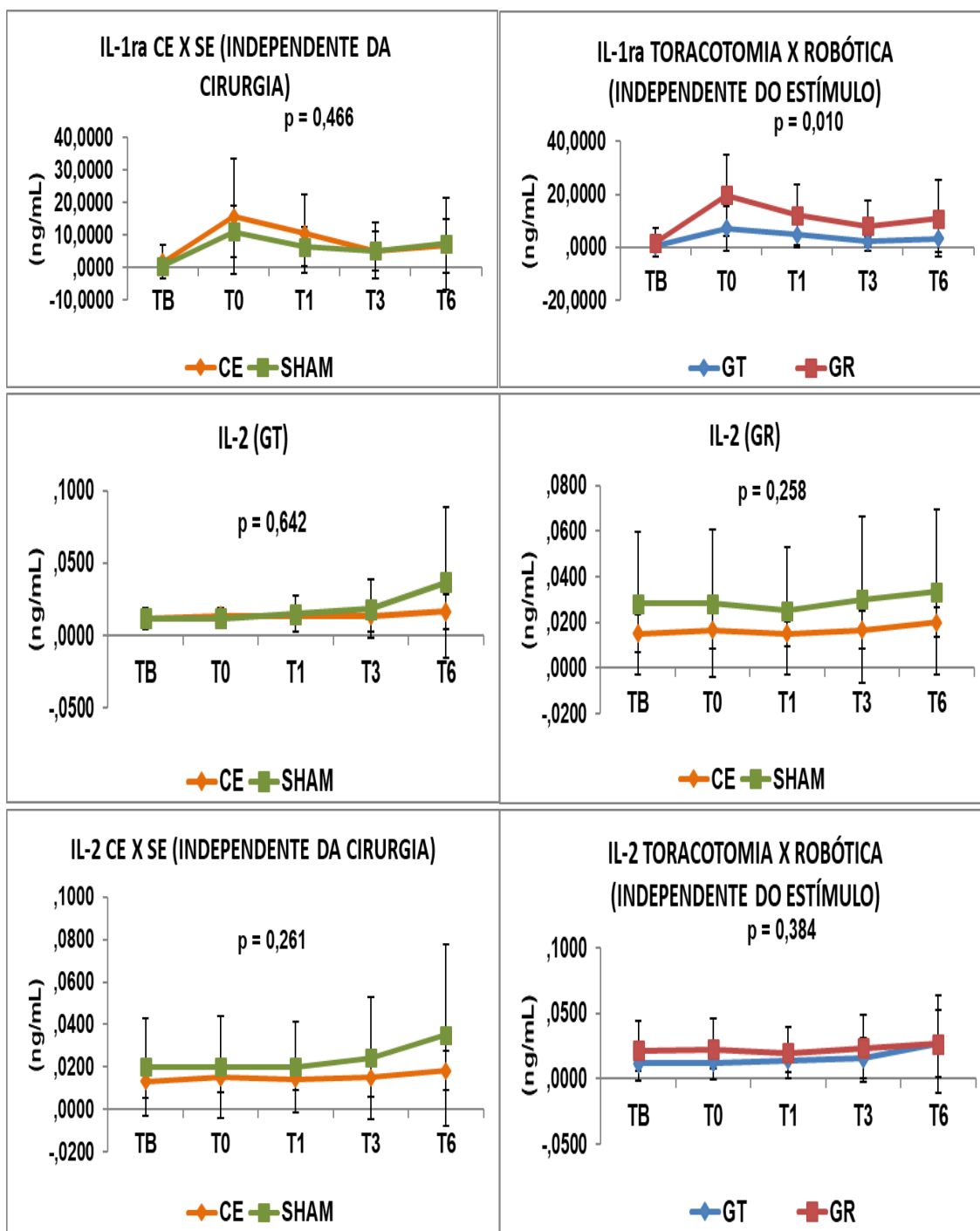


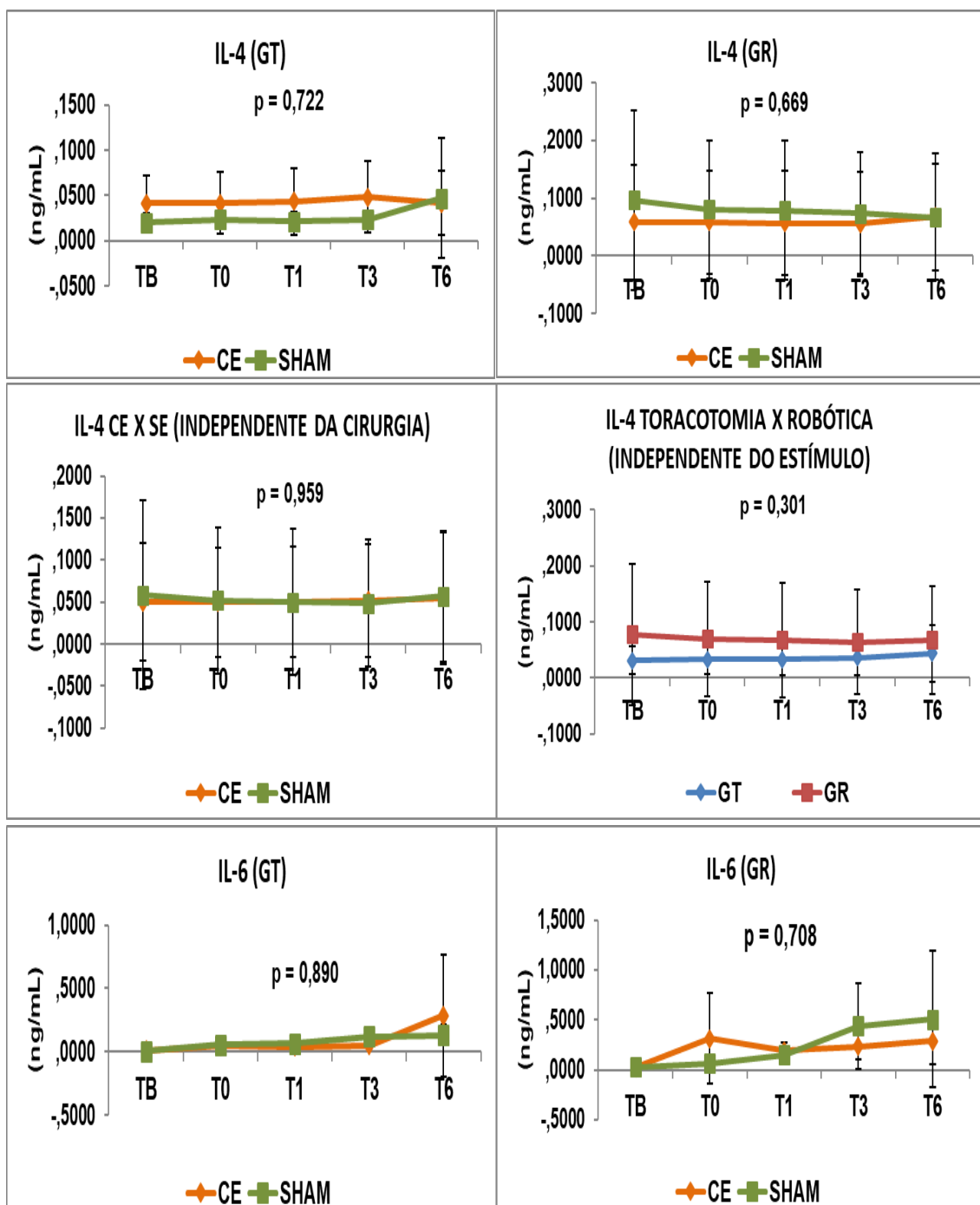
**PAINÉIS DE CITOCINAS DO SORO**

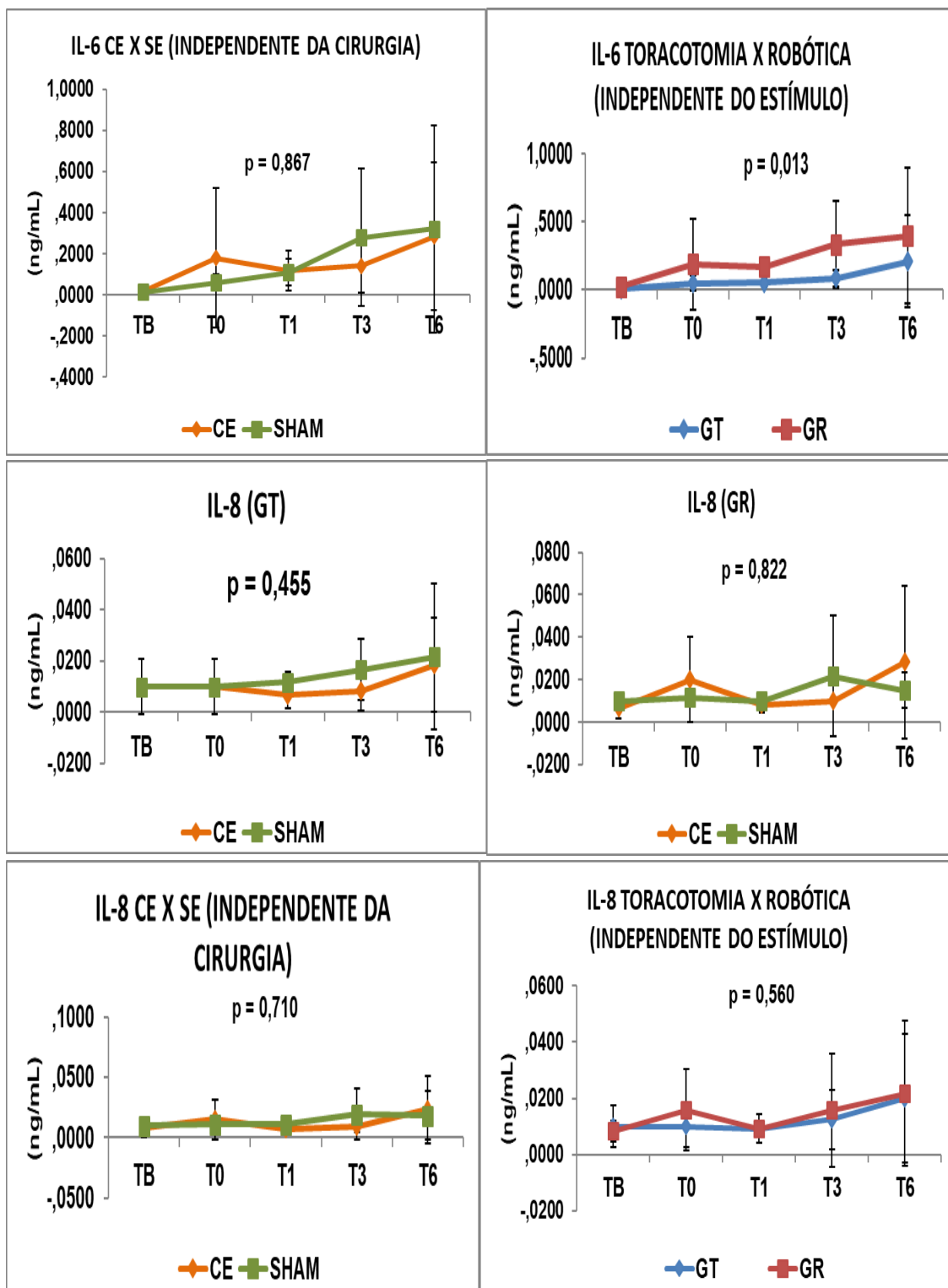


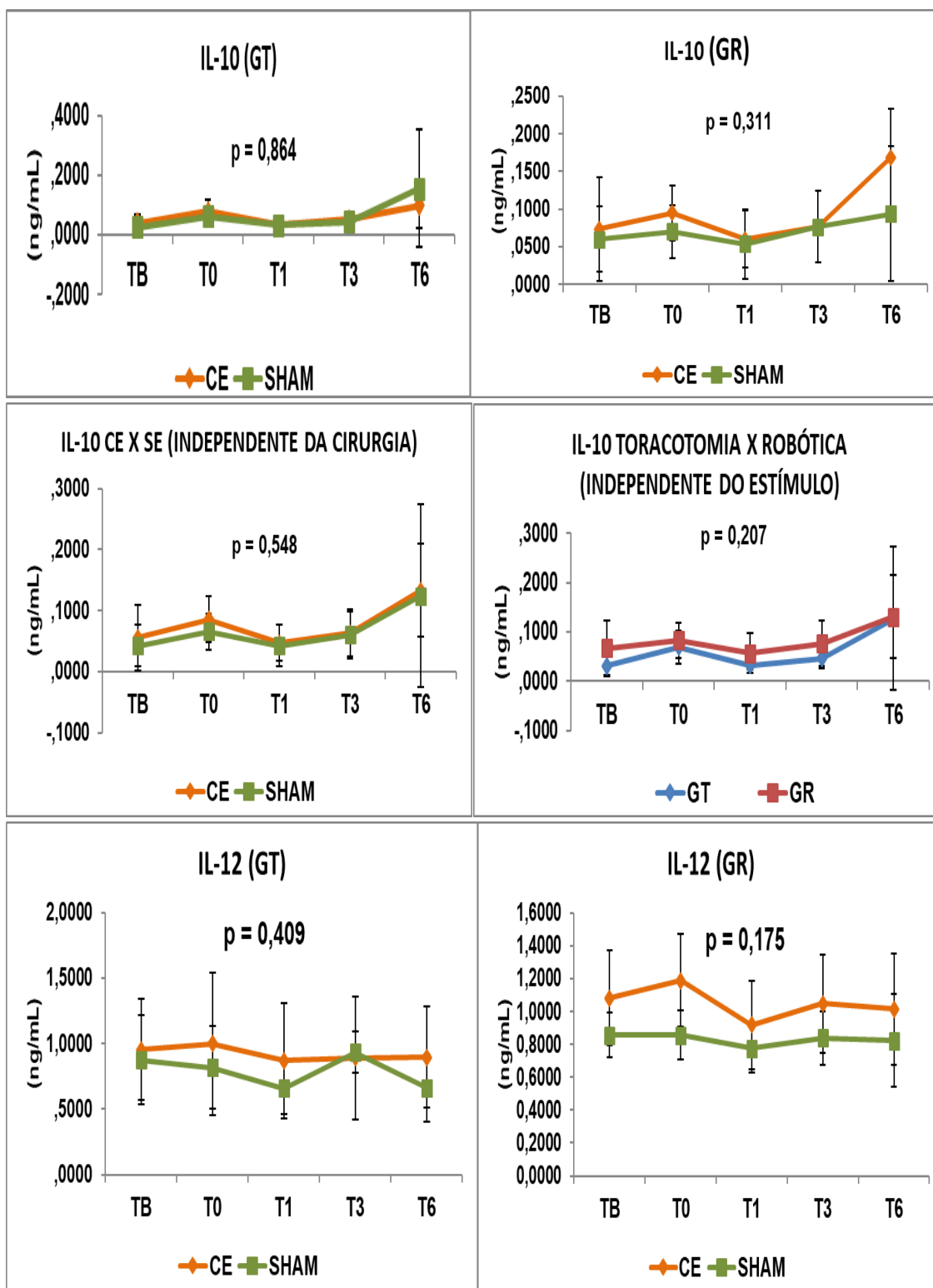


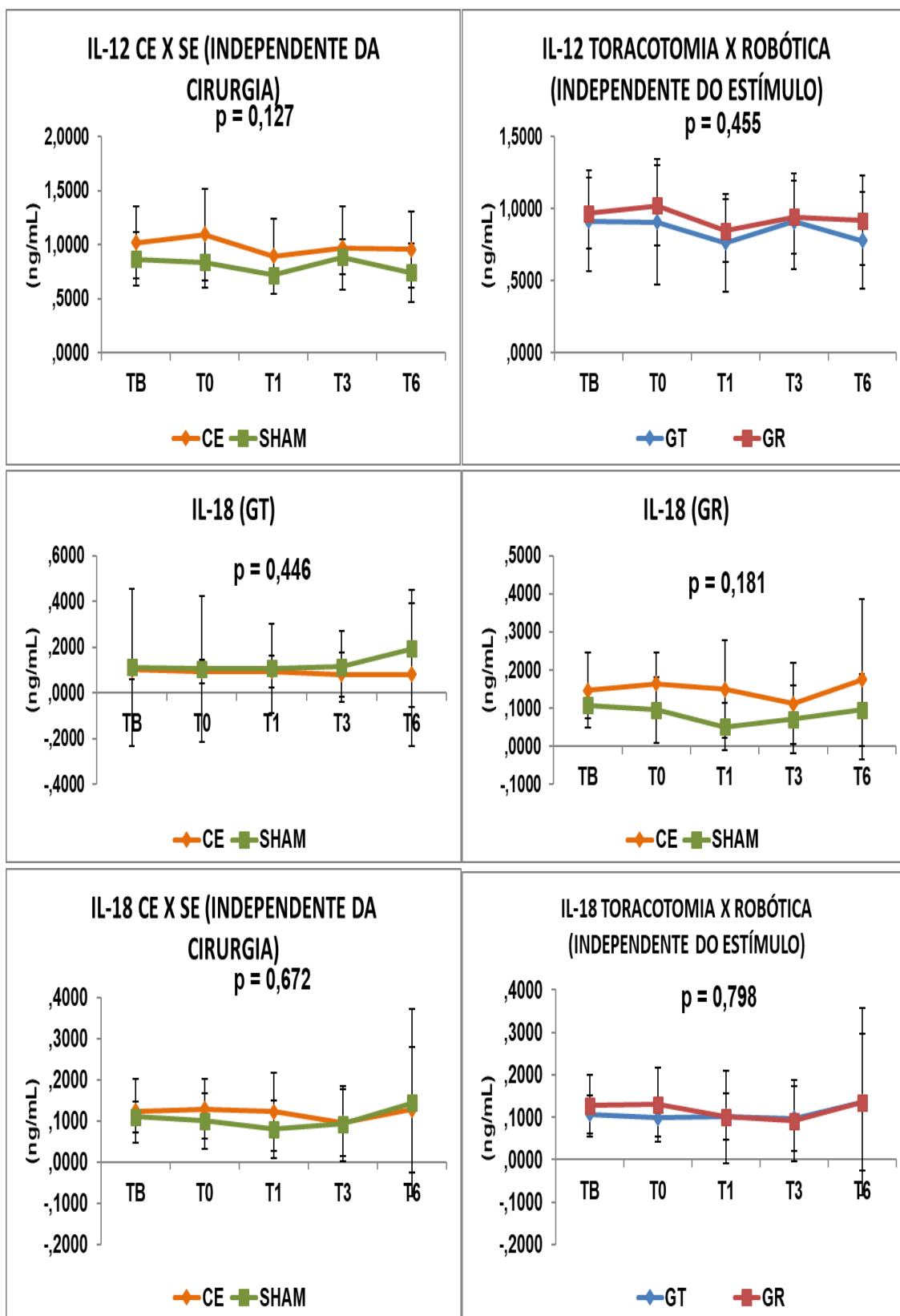




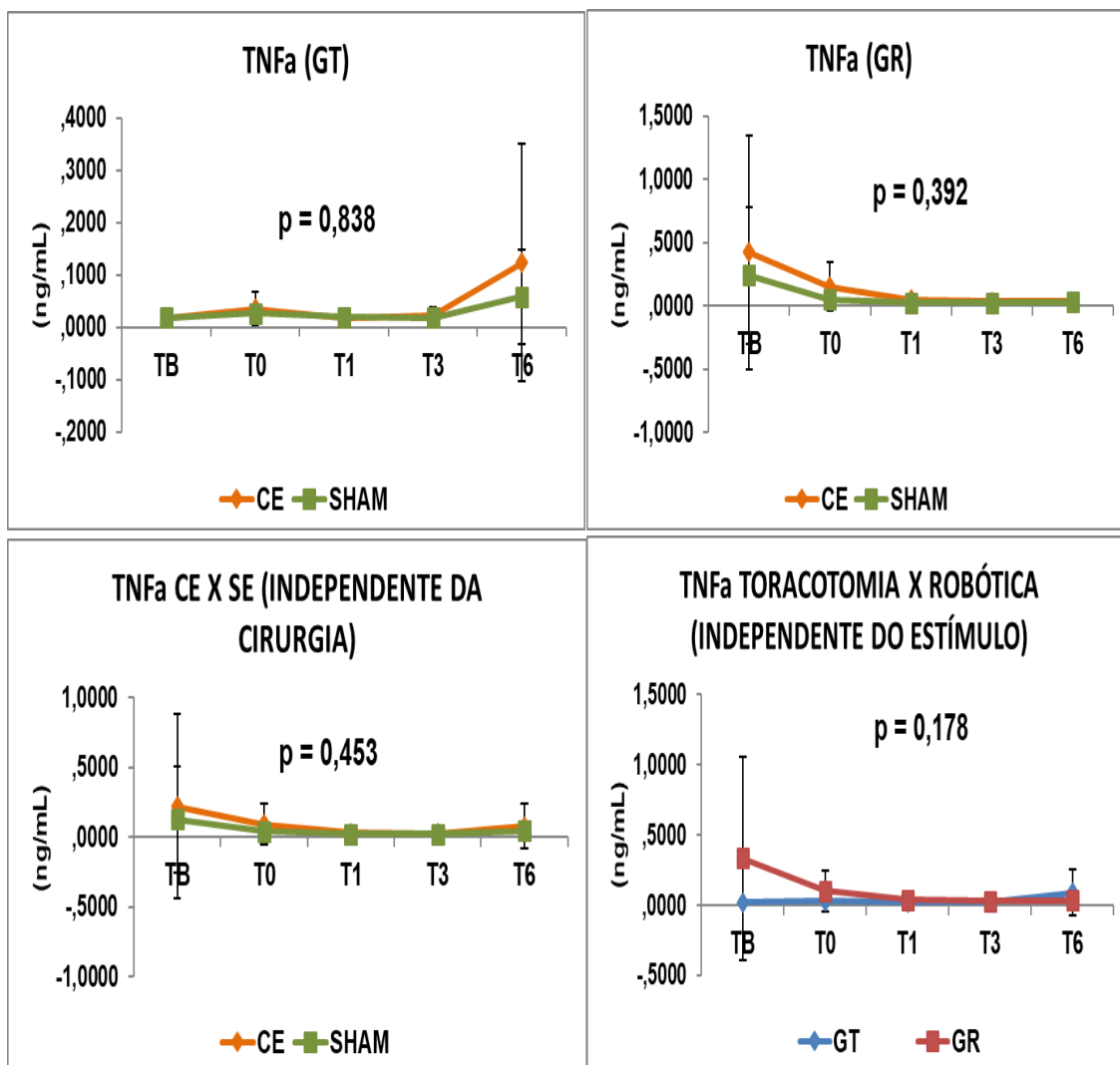




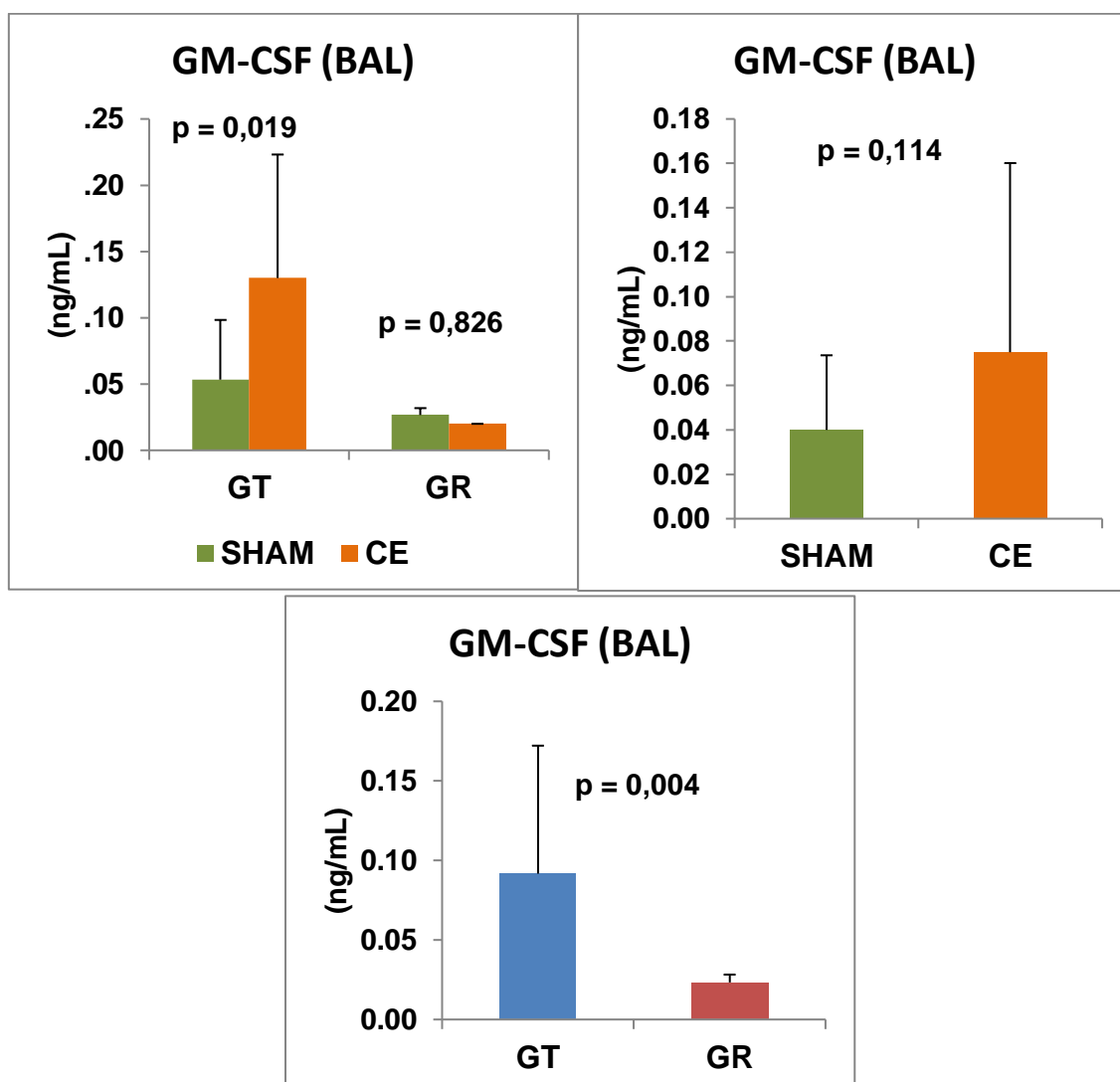


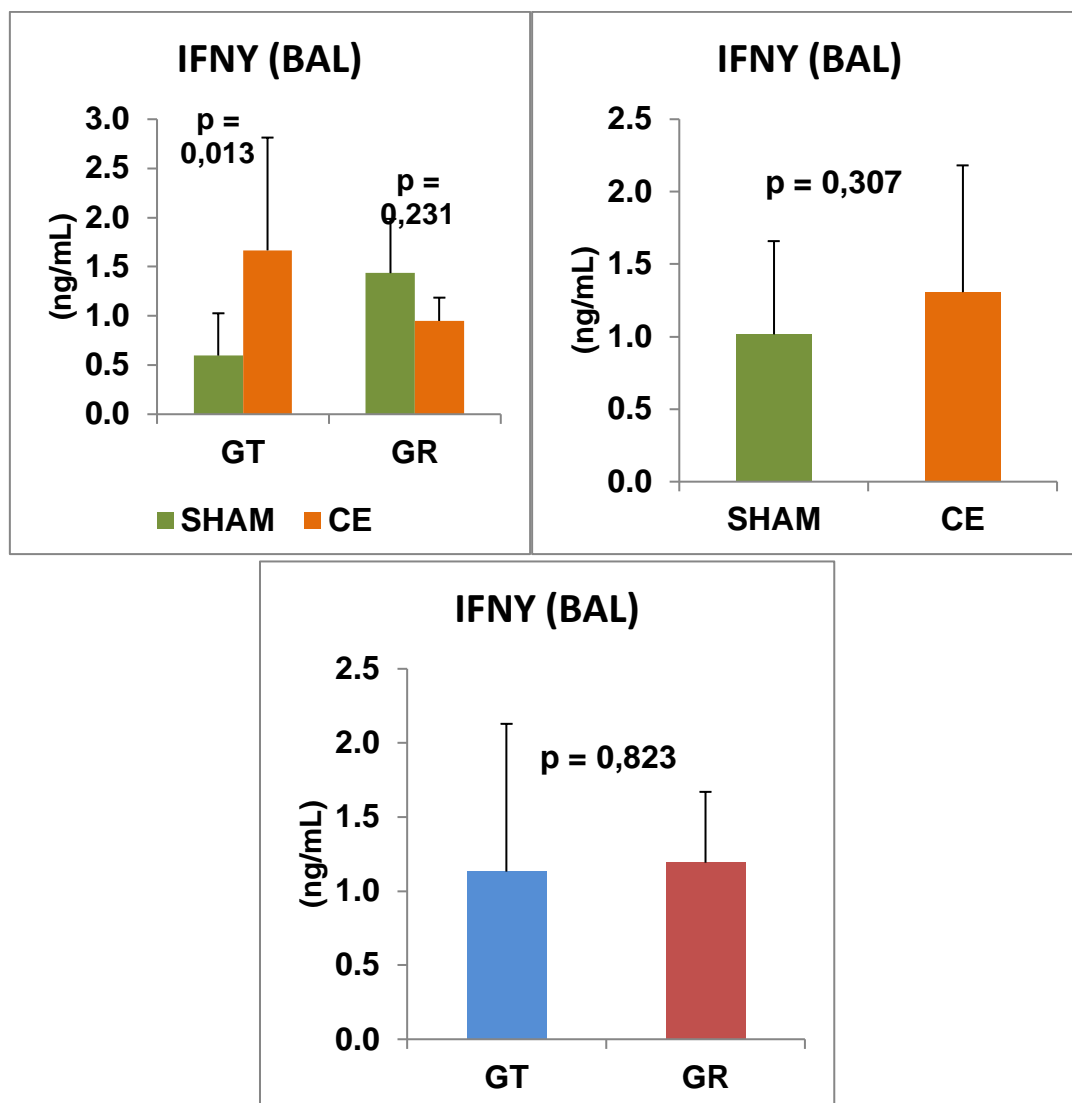


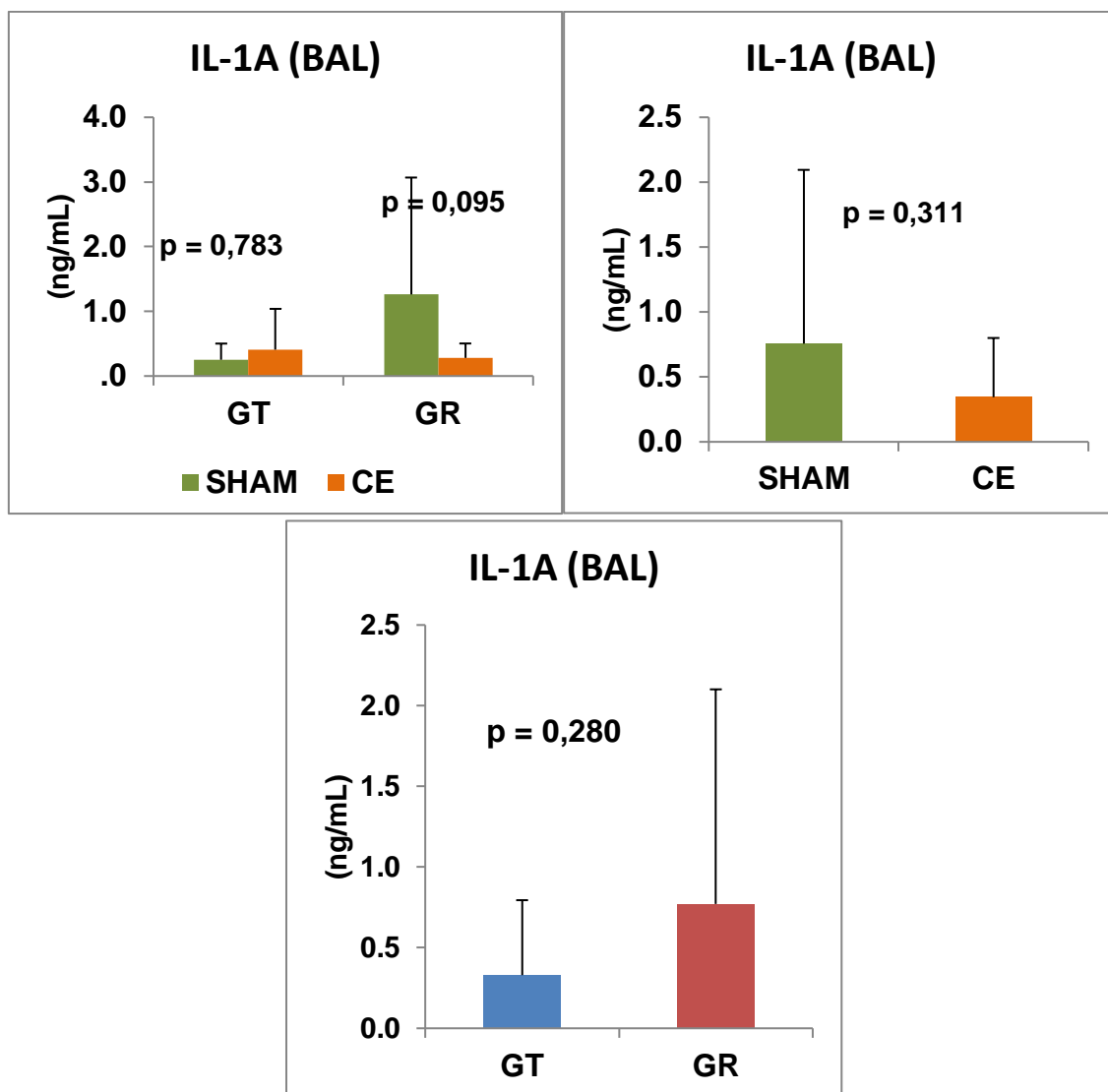


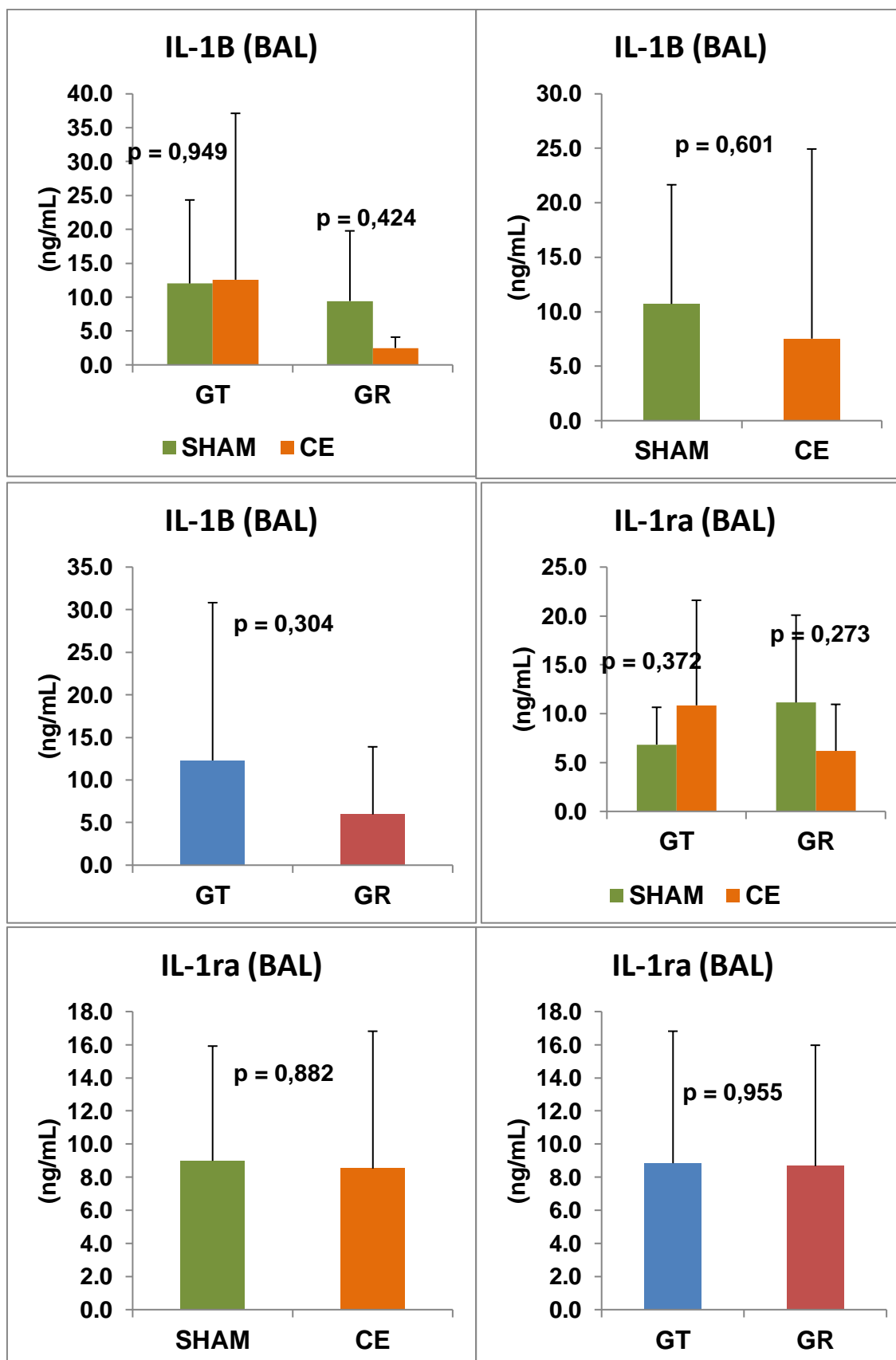


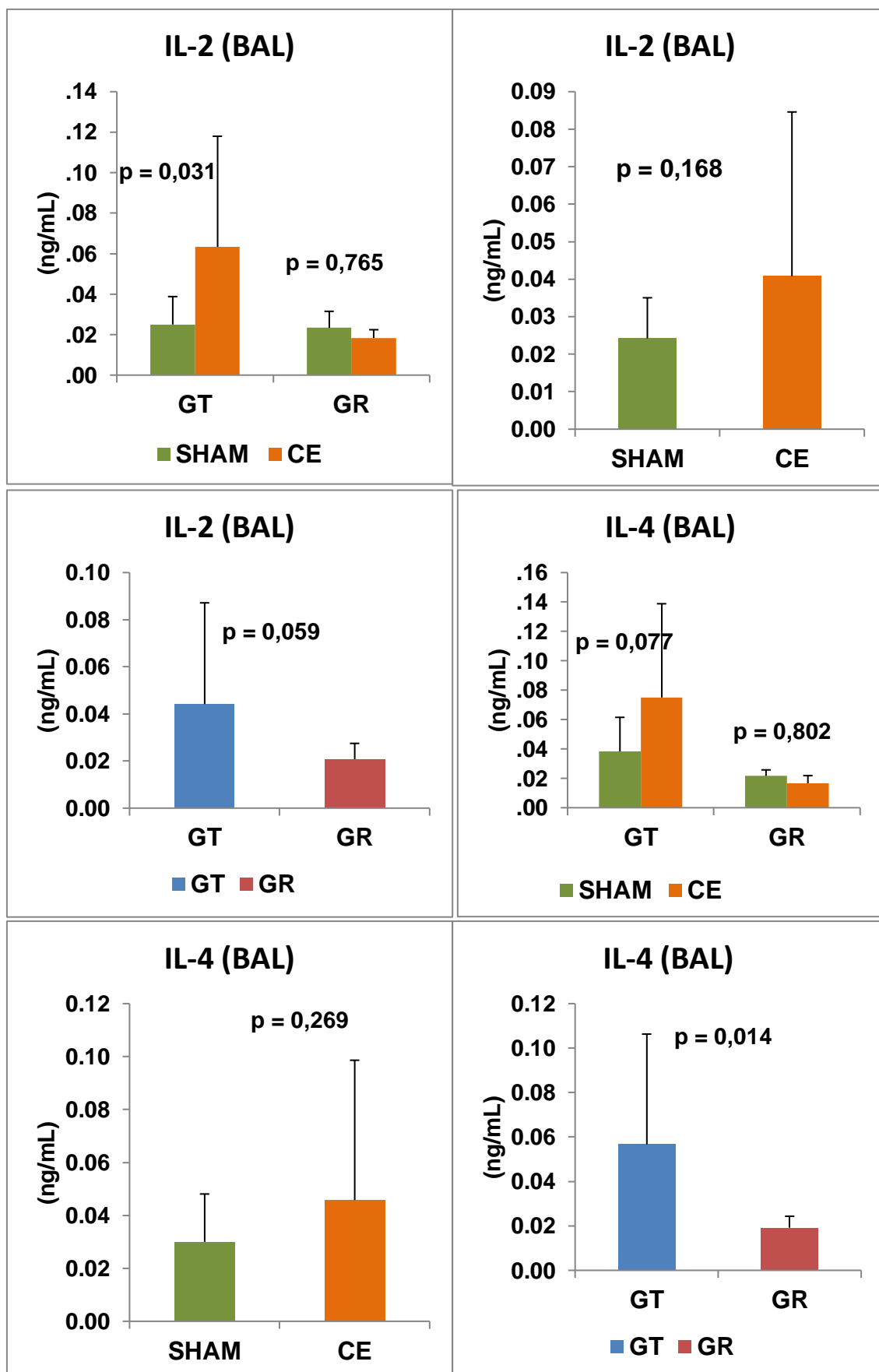
## ANEXO RESULTADOS DE CITOCINAS DO BAL

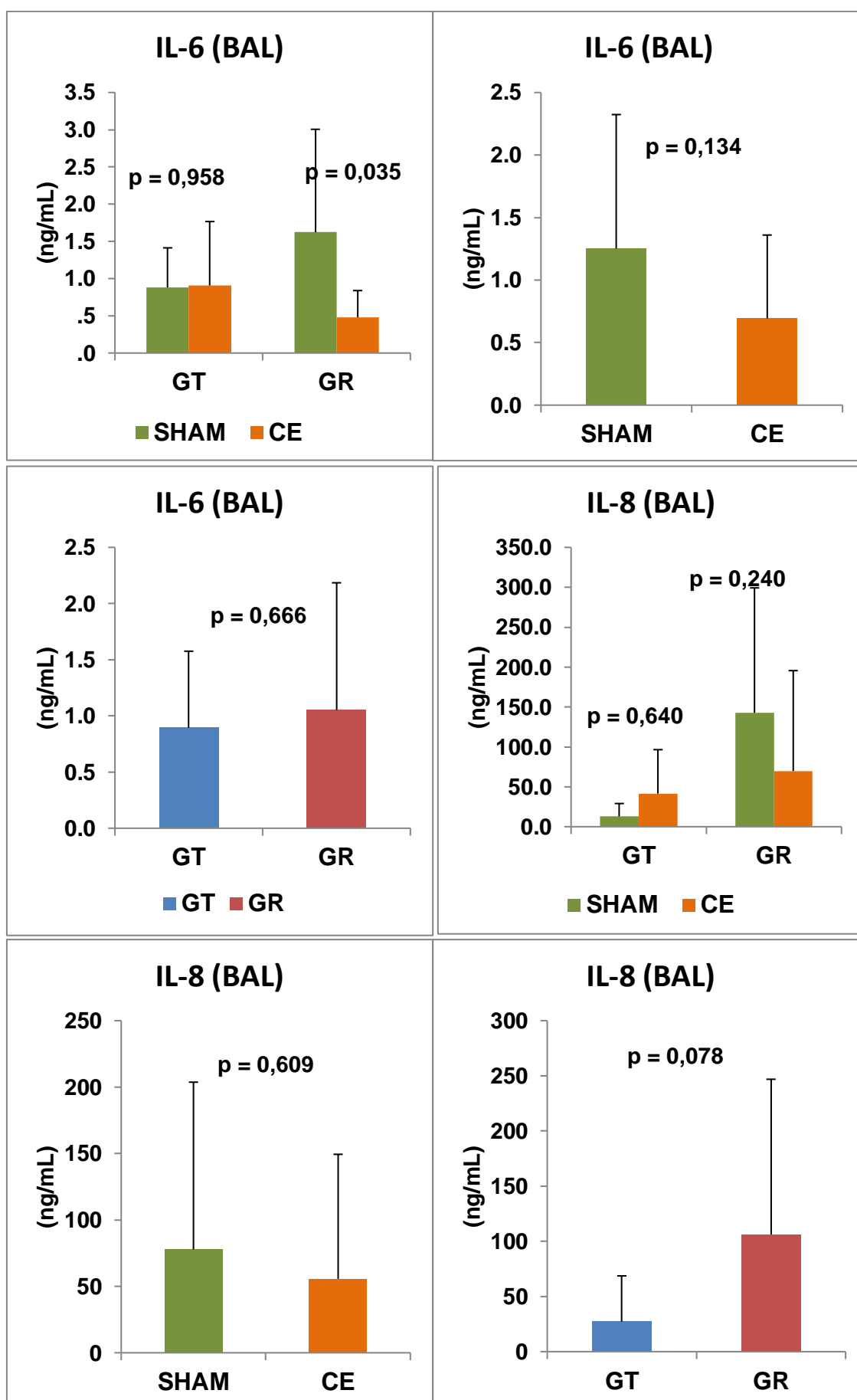


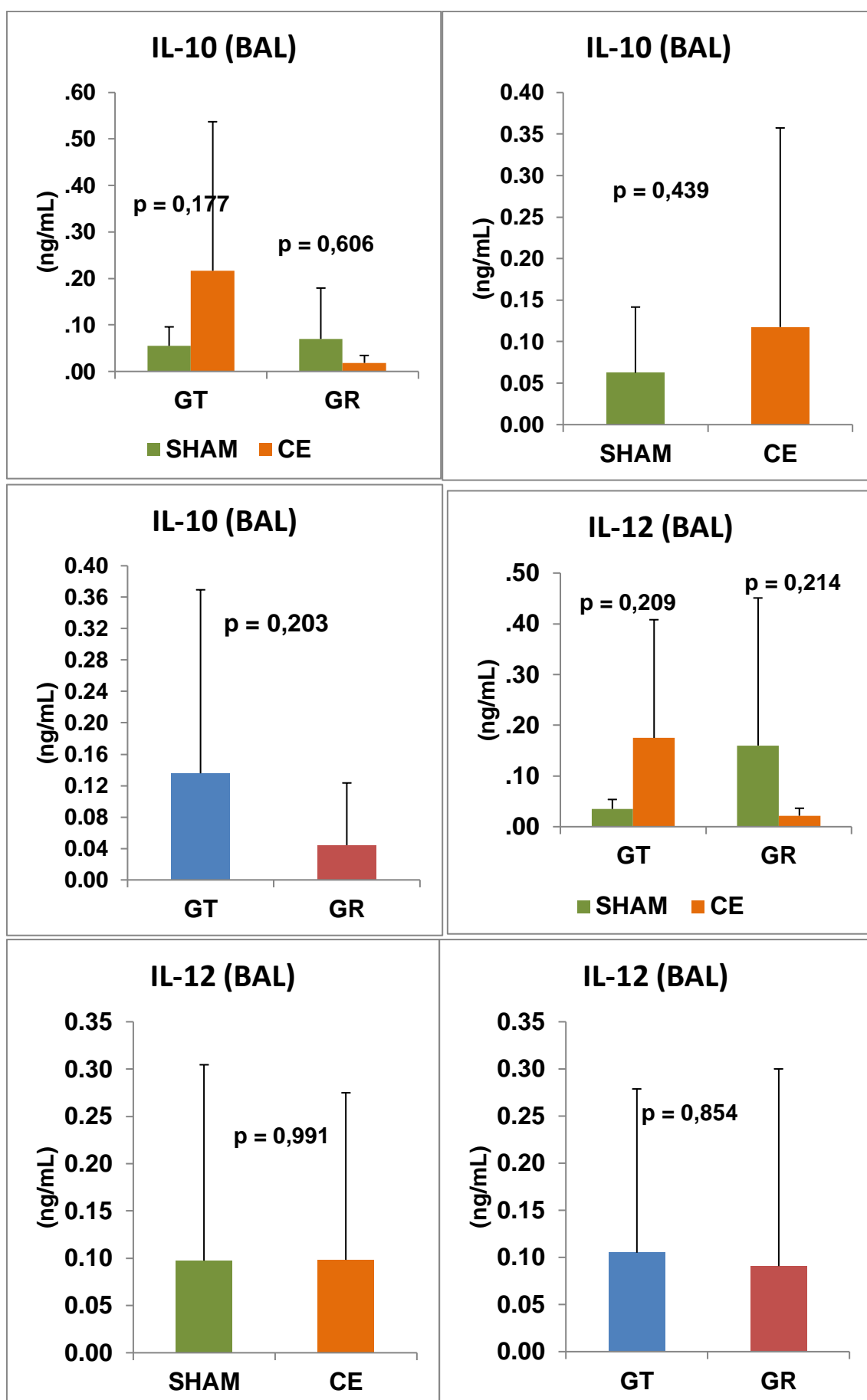




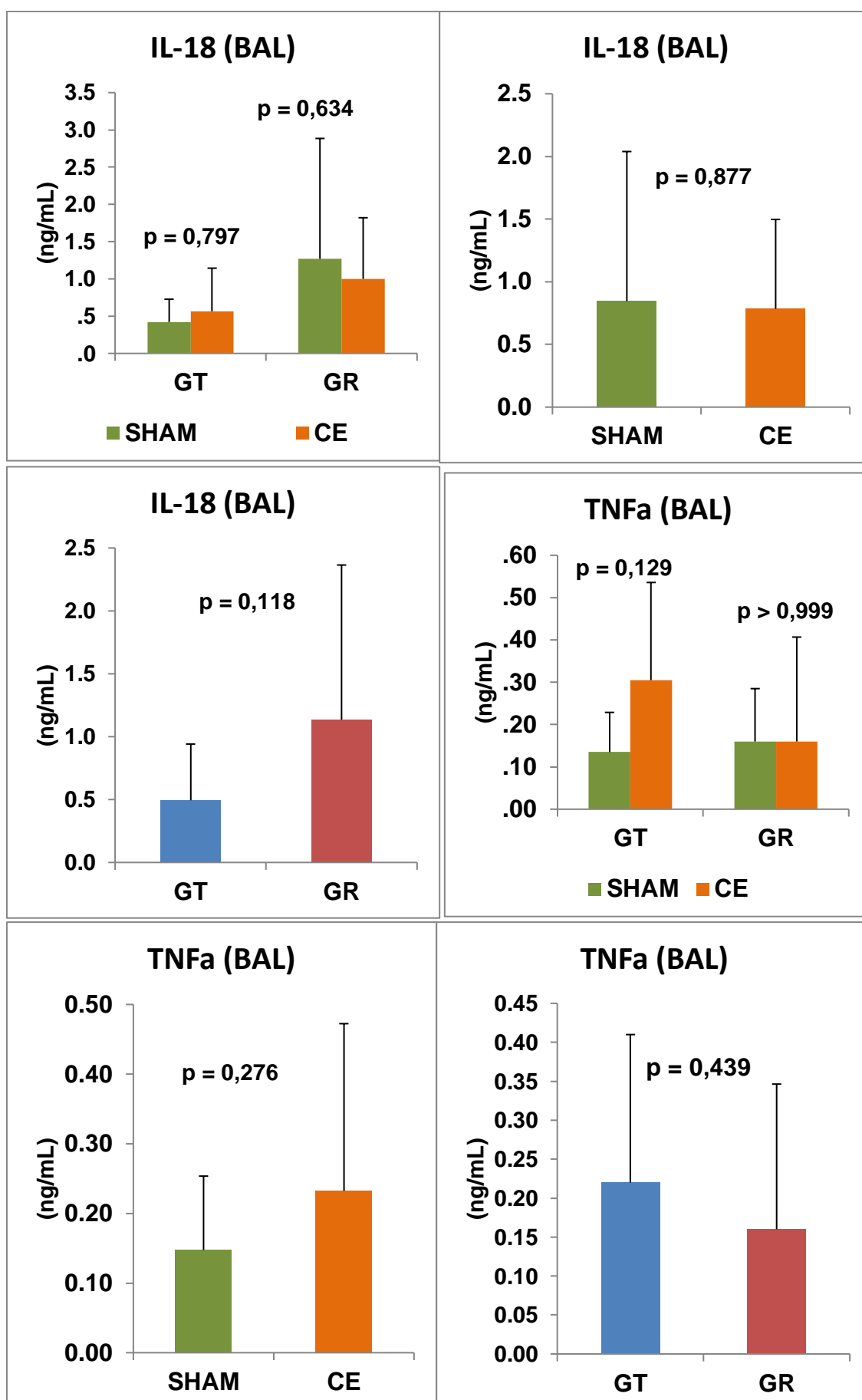




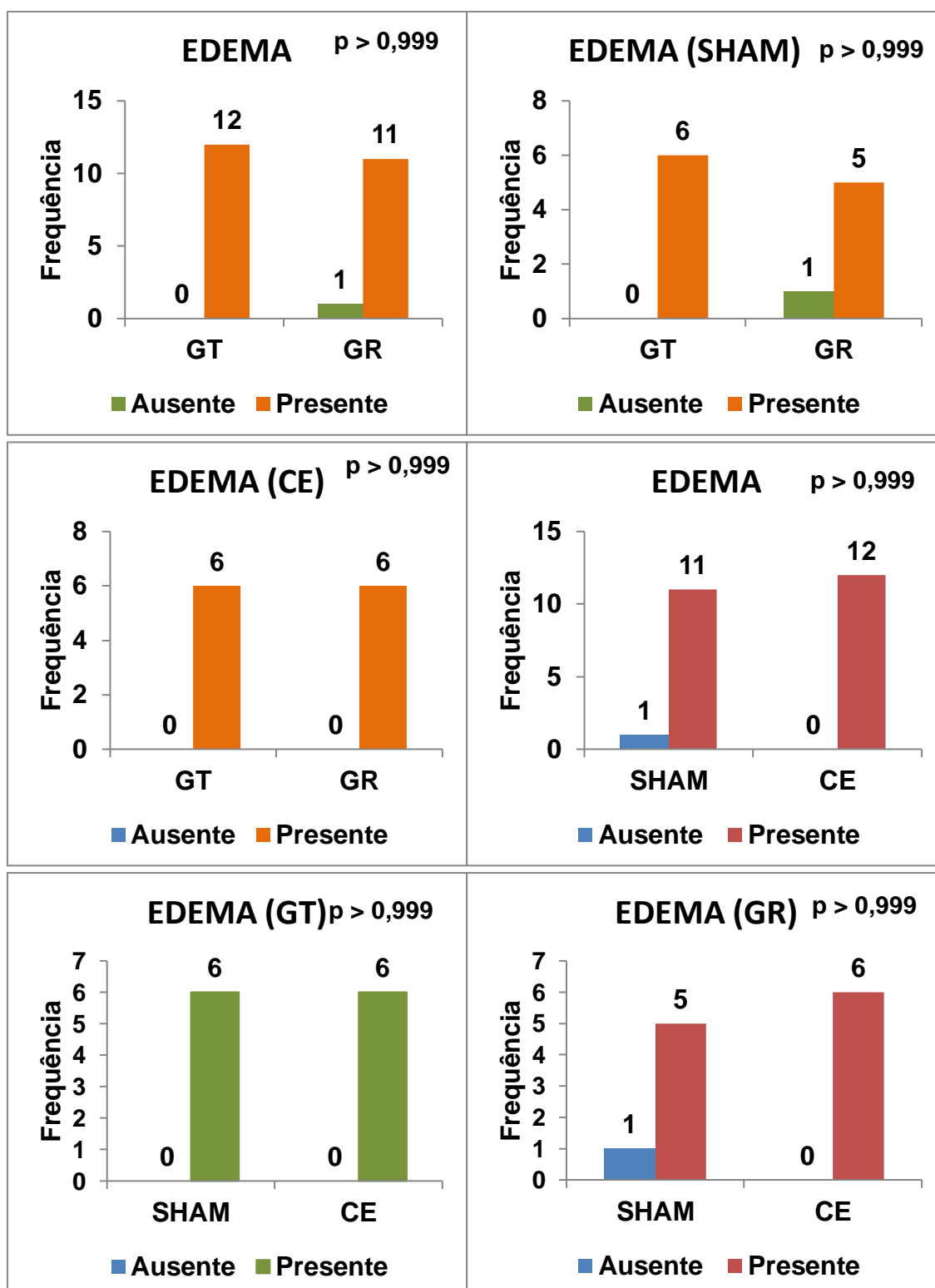


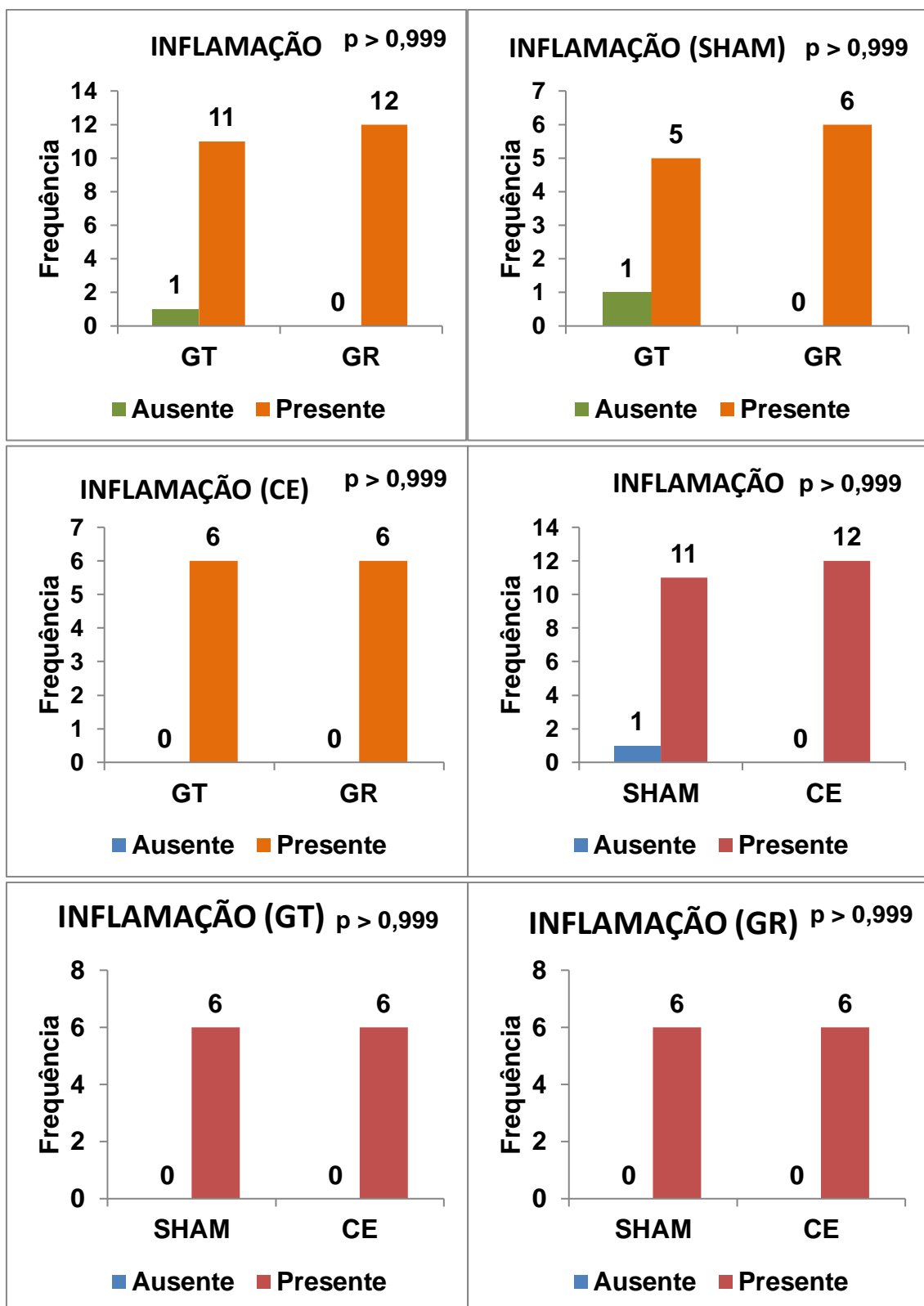


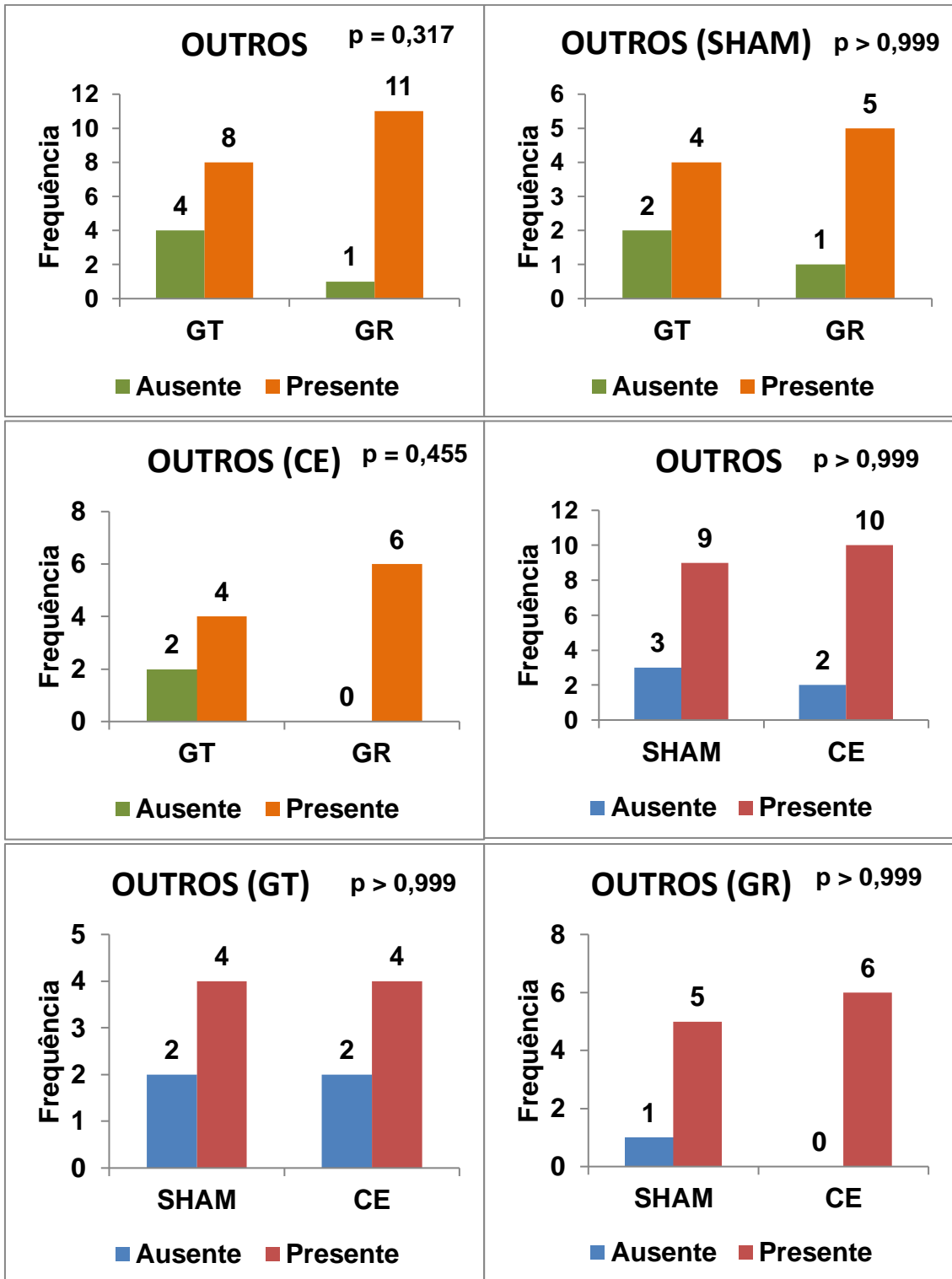




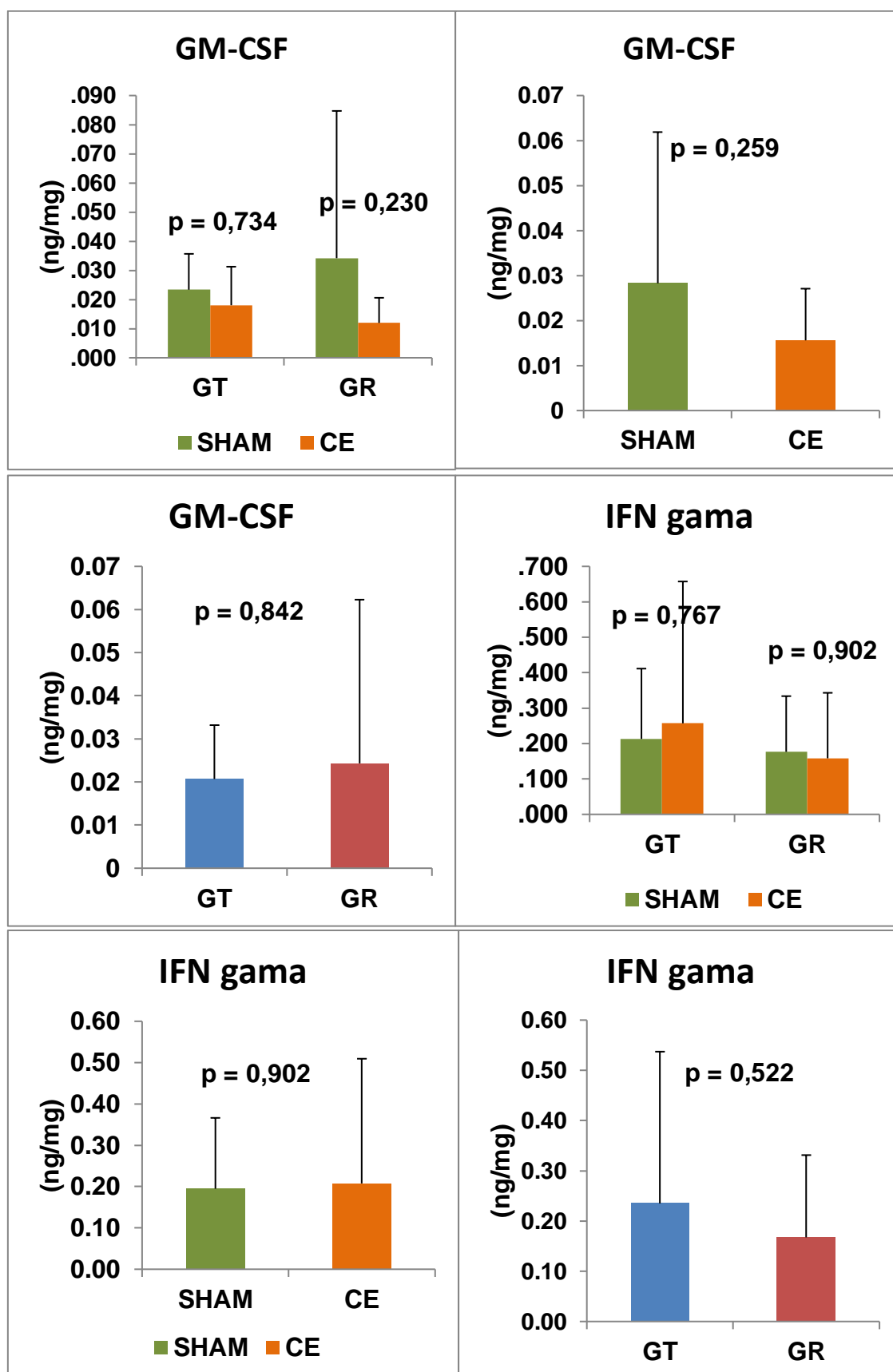
## RESULTADOS DE AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

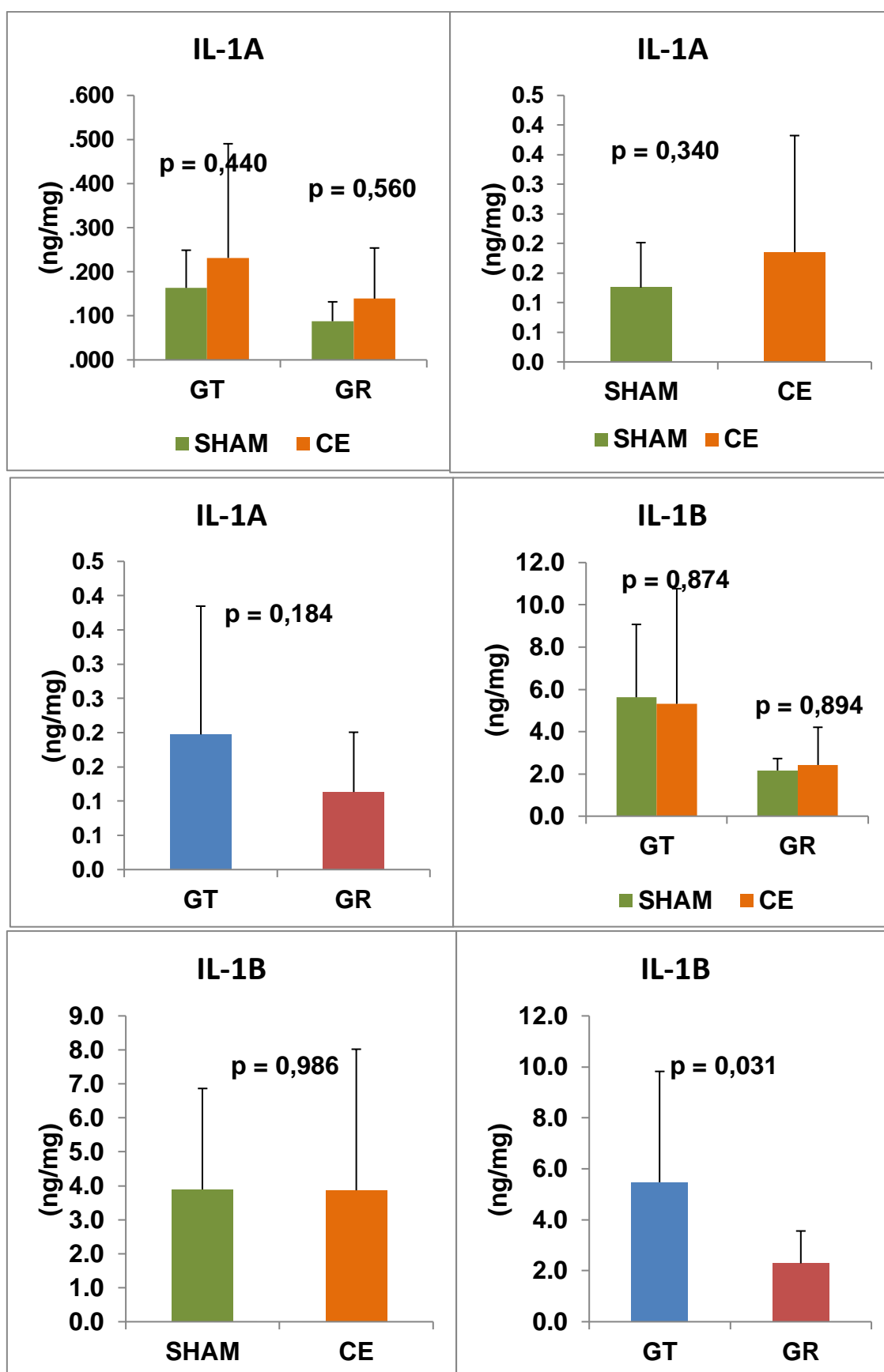


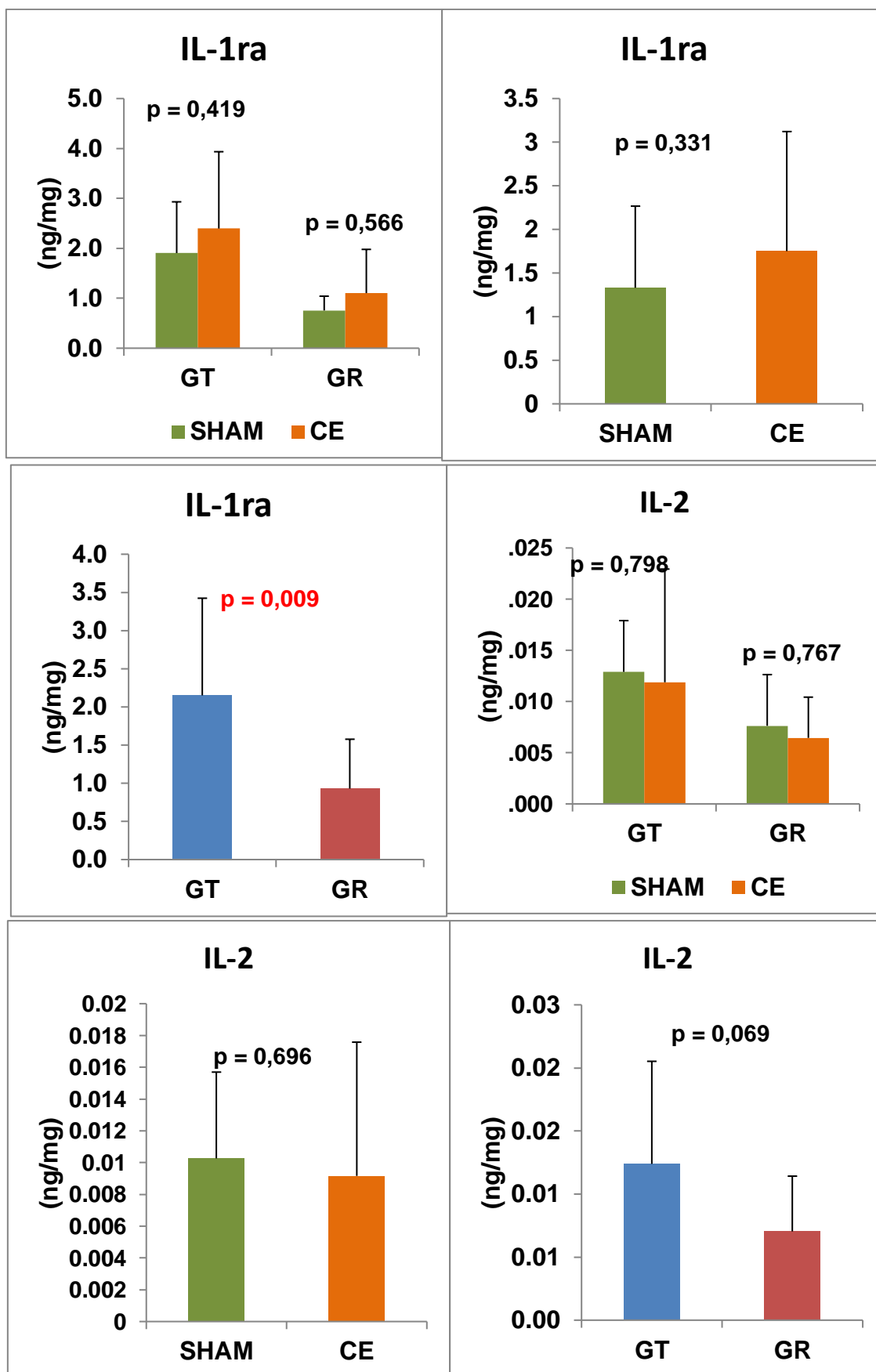


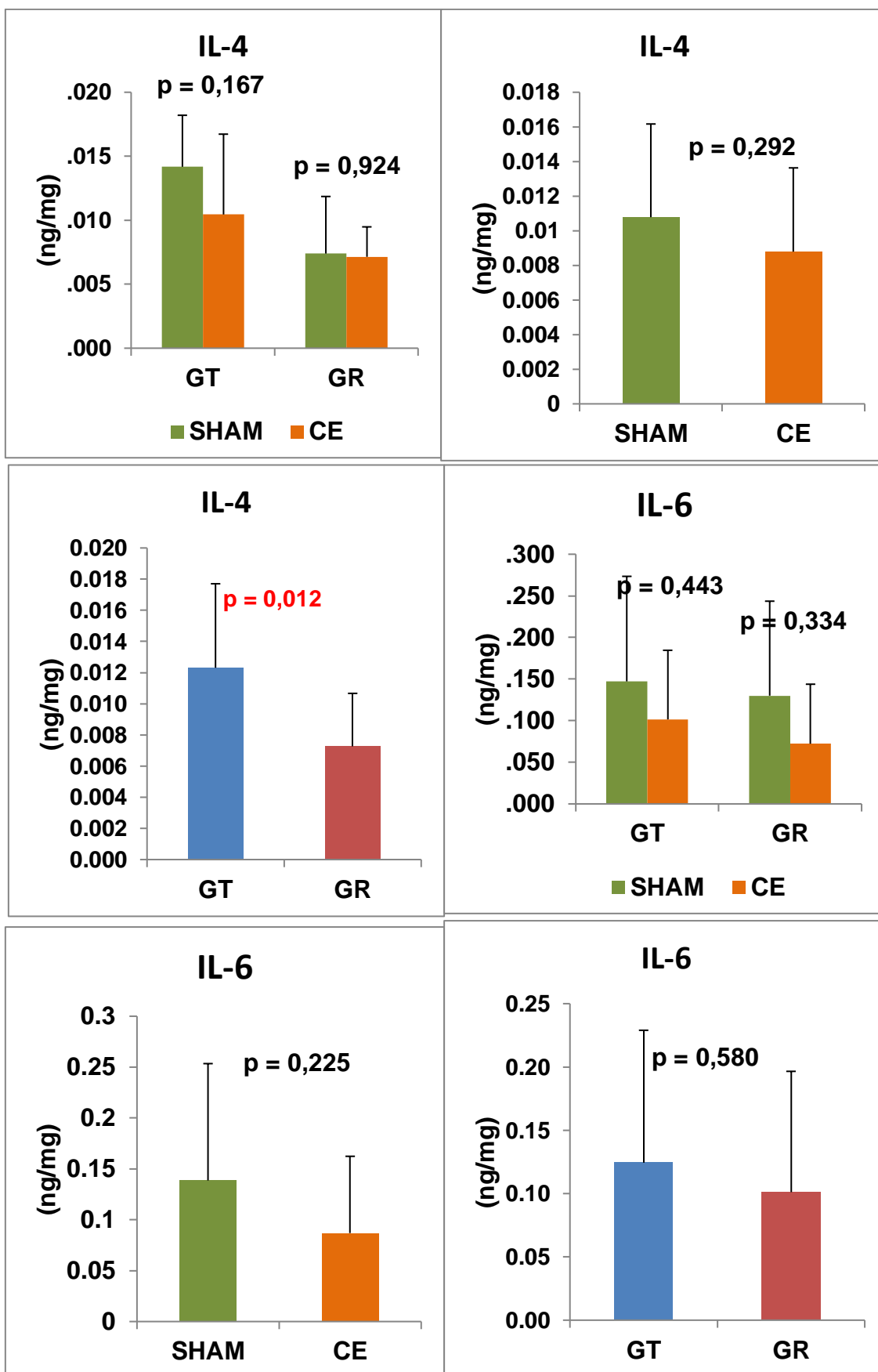


## PAINEL CITOCINAS DO PARÊNQUIMA PULMONAR

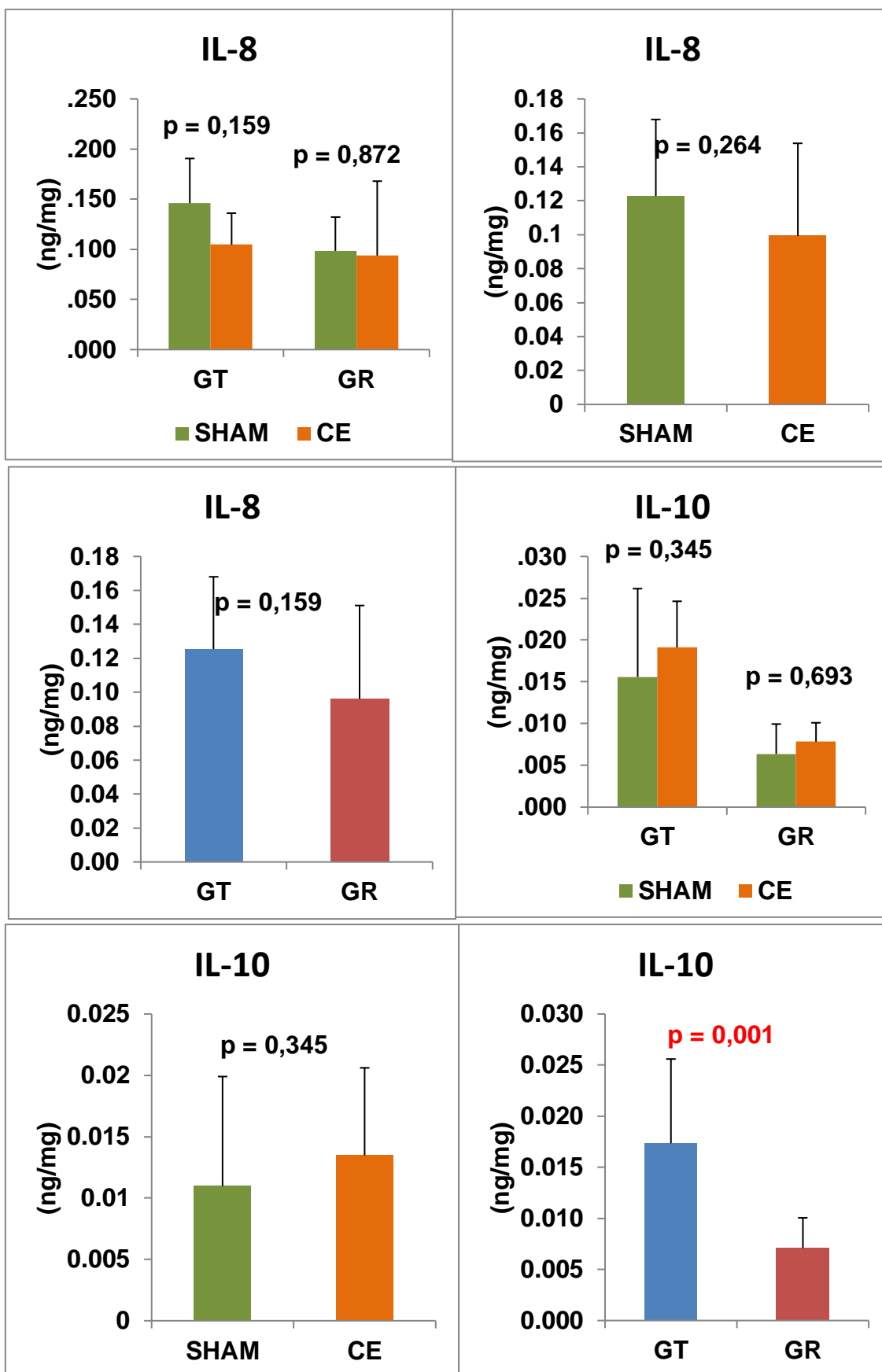


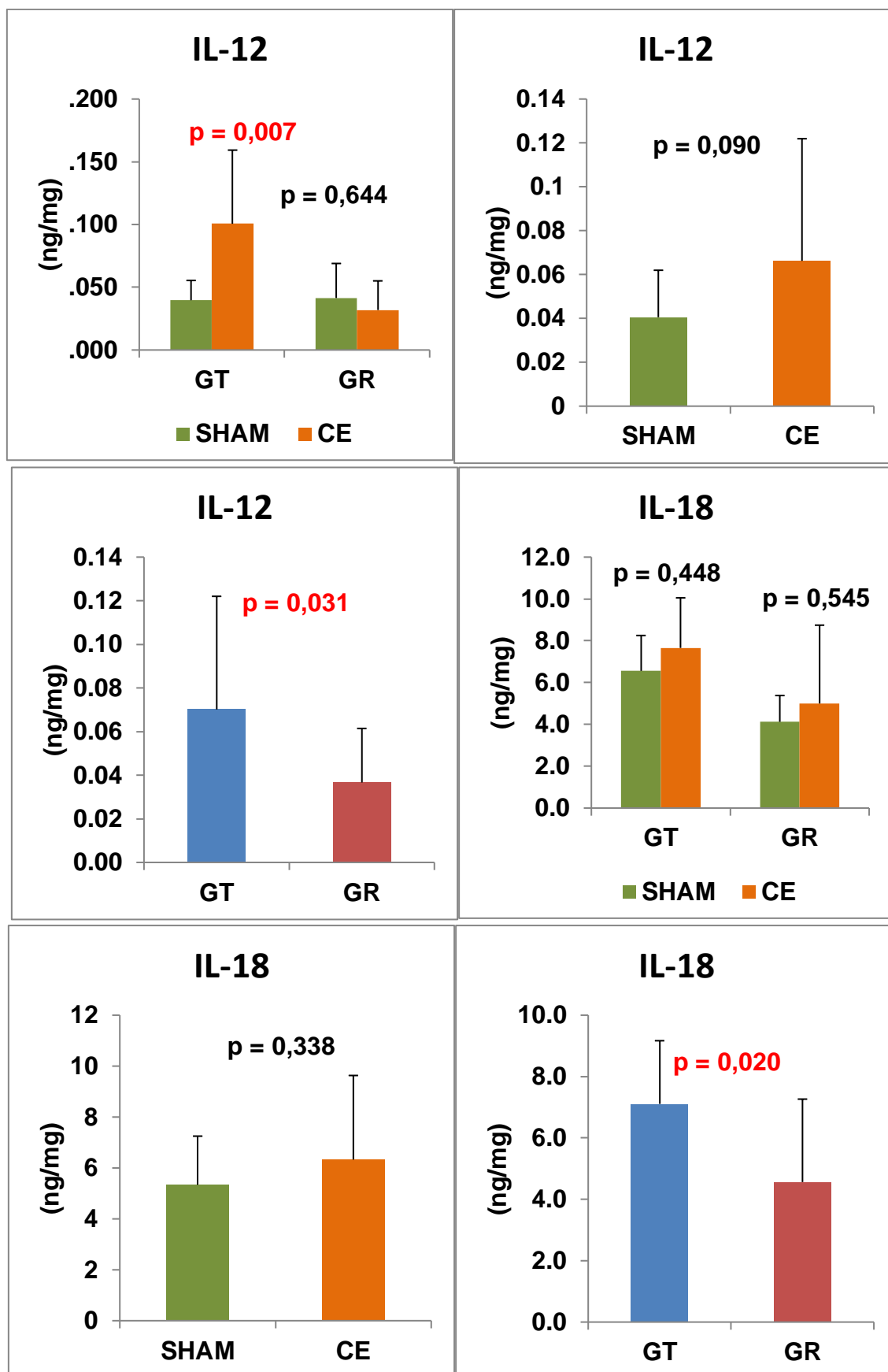


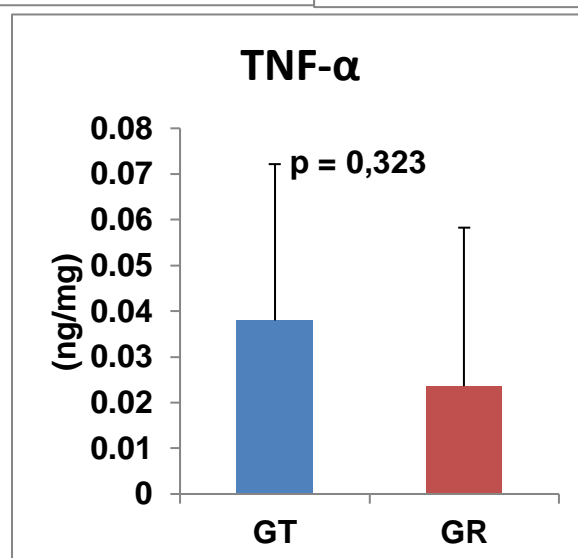
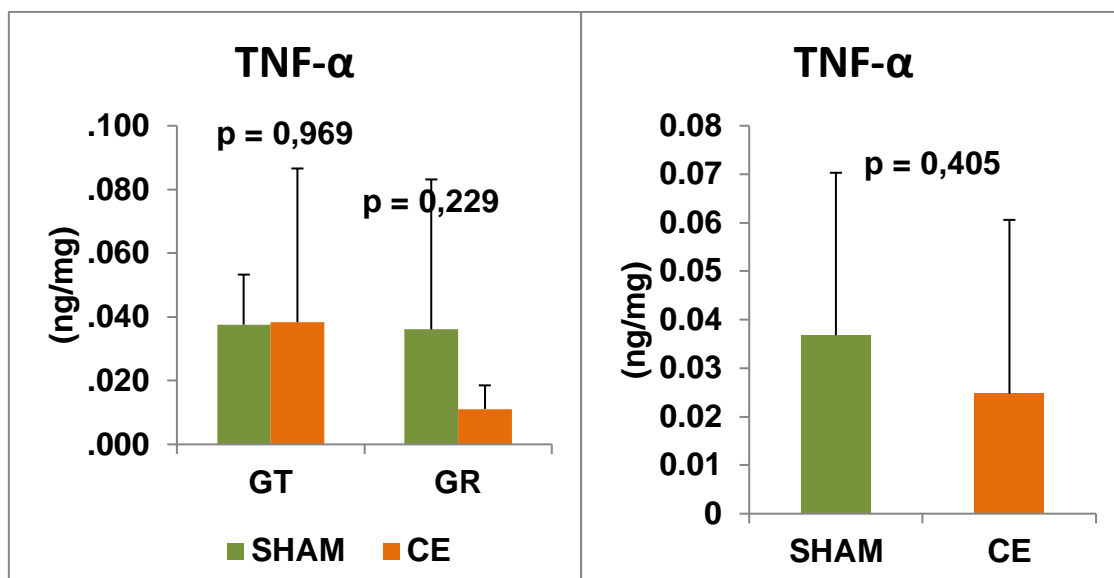












## ***10 Referências***

---

1. Naef AP. The mid-century revolution in thoracic and cardiovascular surgery: Part 1. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery* 2(2003)219-226.
2. Costa IA. História da cirurgia cardíaca brasileira. *Ver Bras Cir Cardiovasc*, São Paulo, v.13 ,nº1, Jan. 1998.
3. <https://www.sts.org/sites/default/files/documents/STSThoracic-ExecutiveSummaryFall2018.pdf>
4. Netto MX, Paulino MA. Cuidados peri e pós operatórios. In: Saad Junior R, Carvalho WR, Netto MX, Forte V. *Cirurgia torácica geral*. 2º Edição São Paulo Ed Atheneu, 2011, pág.29-55.
5. Buchheit T, Pyati S. Prevention of chronic pain after surgical nerve injury: amputation and thoracotomy. *Surg Clin N Am* 92(2012) 393-407.
6. Gutierrez T, Hemigold R, Pearce A. The systemic response to surgery. *Surgery*. Vol 29, Issue 2(2011) 93-96.
7. Terra RM, Plopper C, Carvalho EA, Waitzberg DL. Capítulo 15: Resposta inflamatória ao trauma. In: Waitzberg. *Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica*. 5º edição. São Paulo. Ed Atheneu, 2017, pág.: 295 – 304.
8. Vittimberga FJ, Foley DP, Meyers WC, Callery MP. Laparoscopic surgery and the systemic immune response. *Annals of Surgery*. Vol 227, nº3 (1998) 326-334.
9. Ho Km, Tan JA. Benefits and risks of corticosteroid prophylaxis in adult cardiac surgery: a dose response meta-analysis. *Circulation* 2009; 119:1853-1866.
10. Friedrich M, Bräuer A, Tirilomis T, Lotfi S, Mielck F, Busch T. Methylene blue administration in severe systemic inflammatory response syndrome (SIRS) after thoracic surgery. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* Vol 8, nº 5 (2002):306-310.
11. Cho JM, La Porta AJ, Clark JR, Schofield MJ, Hammond SL, Mallory II PL. Response of serum cytokines in patients undergo laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc* (1994) 8:1380-1384.
12. Calvin SHNg, Hons MBBS, Whelan RL, Lacy AM, Yim APC. Is minimal access surgery for cancer associated with immunologic benefits? *World J Surg* (2005)29:975-981.
13. Craig SR, Leaver HA, Yap PL, Pugh GC, Walker WS. Acute phase responses following minimal access and conventional thoracic surgery. *European Journal of Cardio-thoracic surgery* 20(2001)455-463.
14. Yim APC, Wan S, Lee TW, Arifi AA. VATS lobectomy reduces cytokine responses compared with conventional surgery. *Ann Thoracic Surg* 2000, 70:243-247.
15. Leaver HÁ, Craig SR, Yap PL, Walker WS. Lymphocyte responses following open and minimally invasive thoracic surgery. *European Journal of Clinical Investigation*(2000) 30:230-238.

16. Whitson BA, D´Cunha J, Andrade RS, Kelly RF, Groth SS, Wu B, Miller JS, Kratzke RA, Maddaus MA. Thoracoscopic versus thoracotomy approaches to lobectomy: differential impairment of cellular immunity. *Ann Thorac Surg* 2008; 86:1735-1744.
17. Ishida T, Yokoyama H, Kanedo S, Sugiro K, Sugimachi K. Long-term results of operation for non-small cell lung cancer in the elderly. *Ann Thoracic Surg* (1990) 50:919-922.
18. Nagahiro I, Andou A, Aoe M, Sano Y, Date H, Shimizu N. Pulmonary function postoperative pain, and serum cytokine level after lobectomy: A comparison of VATS and Conventional procedure. *Ann Thorac Surg* 2001; 72:362-365.
19. Scott WJ, Allen MS, Darling G, Meyers B, Decker PA, Putnan JB, McKenna RW, Landreanu RJ, Jones DR, Incelet RI, Mallhaner RA. Video-assisted thoracic surgery versus open lobectomy for lung cancer: A secondary analysis of data from the American College of Surgeons Oncology Group Z0030 randomized clinical trial. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2010, vol 139, nº4:976-983.
20. Liang BU, Yun LI, Yang F, Zhao H, Jiang G, Li J, Liu J, Whang J. Completely video-assisted thoracoscopic lobectomy versus open lobectomy for non-small cell lung cancer greater than 5 cm: a retrospective study. *Chin Med J* 2012; 125(3):434-439.
21. Petersen RP, Pham D, Burfeind WR, Hanish SI, Toloza EM, Harpole DH, D´Amico TA. Thoracoscopic lobectomy facilitates the delivery of chemotherapy after resection for lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2007; 83:1245-1250.
22. Nicastri DG, Wisnivesky JP, Little VR, Yun J, Chin C, Dembitzer FR et al. Thoracoscopic lobectomy : report on safety, discharge independence , pain and chemotherapy tolerance. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 135:642-647.
23. Jiang GC, Yang F, Li X et al. Video-assisted thoracoscopic surgery is more favorable than thoracotomy for administration of adjuvant chemotherapy after lobectomy for non-small cell lung cancer. *World J Surg Oncol* 2001; 9:170-178.
24. Kernstine, K.H. . Robotics in thoracic surgery. *Am J Surg*. 2004; 188 (4A suppl): 89S–97S.
25. Lin E, Calvano SE, Lowry SF. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery* 2000;127:117–26.
26. Bodner J, Wykypiel H, Wetscher G, Schmid T. First experiences with the da Vinci operating robot in thoracic surgery. *European Journal of Cardiothoracic Surgery* 25(2004): 844-851.
27. Louie BE, Farivar AS, Aye RW, Vallieres E. Early experience with robotic lung resection results in similar operative outcomes and morbidity when

- compared with matched video-assisted thoracoscopic surgery cases. *Ann Thoracic Surg* 2012; 93:1598-1605.
28. Louie BE, Wilson JL, Kim S, Cerfolio RJ, Park BJ, Farivar AS, Vallières E, Aye RW, Burfeind WR Jr, Block MI. Comparison of Video-Assisted Thoracoscopic Surgery and Robotic Approaches for Clinical Stage I and Stage II Non-Small Cell Lung Cancer Using The Society of Thoracic Surgeons Database. *Ann Thorac Surg*. 2016 Sep;102(3):917-924. doi: 10.1016/j.athoracsur.2016.03.032. Epub 2016 May 19.
  29. Yuan H, Silberstein SD. Vagus Nerve and Vagus Nerve Stimulation, a Comprehensive Review: Part I. Headache. 2016 Jan;56(1):71-8. doi: 10.1111/head.12647. Epub 2015 Sep 14.
  30. Berthoud HR, Neuhuber WL. Functional and chemical anatomy of the afferent vagal system. *Auton Neurosci*. 2000;85:1-17.
  31. Craig AD. Interoception: The sense of the physiological condition of the body. *Curr Opin Neurobiol*. 2003;13:500-505.
  32. Dockray GJ. Enteroendocrine cell signalling via the vagus nerve. *Curr Opin Pharmacol*. 2013;13: 954-958.
  33. Seki A, Green HR, Lee TD, Fishbein MC. Sympathetic nerve fibers in human cervical and thoracic vagus nerves. *Heart Rhythm*. 2014;11:1411-1417.
  34. <http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/vagus1nerve>
  35. Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature*. 2002 Vol420 19/26:853-859.
  36. Tracey KJ. Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. *The Journal of Clinical Investigation* <http://www.jci.org> Volume 117 Number 2 February 2007
  37. Ulloa L. The vagus nerve and the nicotinic anti-inflammatory pathway. *Nature Reviews* 2005. Vol 4 673-683.
  38. Borovikova LC, Ivanova S, Zhang M, Yang H, Botchikina GI, Watkins LR, Wang H, Abumrad N, Eaton JW, Tracey KJ. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*. 2000. Vol 405:458-462.
  39. Van Westerloo DJ, Giebelen IAJ, Meijers JCM, Daalhuisen J, De Vois AF, Levi M, Van der Poll T. Vagus nerve stimulation inhibits activation of coagulation and fibrinolysis during endotoxemia in rats. *J Thromb Haemost* 2006, 4:1997-2002.
  40. Bernik TR, Friedman SG, Ochani M, DiRaimo R, Susarla S, Czura CJ, Tracey KJ. Cholinergic anti-inflammatory pathway inhibition os tumor necrosis factor during ischemia reperfusion. *Journal of Vasc Surg* 2002 vol36; 6:1231-1236.

41. Krzyzaniak M, Peterson C, Loomis W, Hageny AM, Wolf P, Reys L, Putnan J, Eliceiri B, Baird A, Bansal V, Coimbra R. Postinjury vagal nerve stimulation protects against intestinal epithelial barrier breakdown. *J Trauma* 2011; 70:1168-1176.
42. Czura CJ, Schultz A, Kaipel M, Khadem A, Huston JM, Pavlov VA, Redl H, Tracey KJ. Vagus nerve stimulation regulates hemostasis in swinw. *Shock* 2010, vol 33,6:608-613.
43. Bernik TR, Friedman SG, Ochani M, DiRaimo R, Ulloa L, Yang H, Judan S, Czura CJ, Ivanova SM, Tracey KJ. Pharmacological stimulation of the cholinergic anti-inflammatory pathway. *J Exp Med* 2002 vol195; 6:781-788.
44. Yang X, Zhao C, Gao Z, Su X. A novel regulator of lung inflammation and immunity: pulmonary parasympathetic inflammatory reflex. *QJ Med.* 2014 Oct;107(10):789-92.
45. Yoshida K, Saku K, Kamada K, Abe K, Tanaka-Ishikawa M, Tohyama T, Nishikawa T, Kishi T, Sunagawa K, Tsutsui H. Electrical Vagal Nerve Stimulation Ameliorates Pulmonary Vascular Remodeling and Improves Survival in Rats With Severe Pulmonary Arterial Hypertension. *JACC Basic Transl Sci.* 2018 Nov 12;3(5):657-671.
46. Levy G, Fishman JE, Xu DZ, Dong W, Palange D, Vida G, Mohr A, Ulloa L, Deitch EA. Vagal nerve stimulation modulates gut injury and lung permeability in trauma-hemorrhagic shock. *J Trauma Acute Care Surg.* 2012 Aug;73(2):338-42.
47. Krzyzaniak MJ<sup>1</sup>, Peterson CY, Cheadle G, Loomis W, Wolf P, Kennedy V, Putnam JG, Bansal V, Eliceiri B, Baird A, Coimbra R. Efferent vagal nerve stimulation attenuates acute lung injury following burn: The importance of the gut-lung axis. *Surgery.* 2011 Sep;150(3):379-89.
48. Penry JK, Dean JC. Prevention os intractable partial seizures by intermittent vagal stimulation in humans:preliminary results. *Epilepsia* 1990; 31 Suppl 2.S40
49. Rossi P, Ricci A, De Paulis R, Papi E, Pavaci H, Porcelli D et al. Epicardial ganglionated plexus stimulation decreases posoperative inflammatory response in humans. *Heart Rhythm* 2012, vol 9; 6:943-950.
50. Alazawi W; Pirmadjid N; Lahiri R; Bhattacharya S. Inflammatory and Immune Responses to Surgery and Their Clinical Impact, *Annals of Surgery*: July 2016 - Volume 264 - Issue 1 - p 73-80 doi: 10.1097/SLA.0000000000001691.
51. Johnston GR<sup>1</sup>, Webster NR. Cytokines and the immunomodulatory function of the vagus nerve. *Br J Anaesth.* 2009 Apr;102(4):453-62. doi: 10.1093/bja/aep037. Epub 2009 Mar 3.



52. Meurens, F., Summerfield, A., Nauwynck, H.J., Saif, L., & Gerds, V. (2012). The pig: a model for human infectious diseases. *Trends in Microbiology*, 20, 50 - 57.
53. Bassols, A., Costa, C., Eckersall, P. D., Osada, J., Sabrià, J., & Tibau, J. (2014). The pig as an animal model for human pathologies: A proteomics perspective. *PROTEOMICS - Clinical Applications*, 8(9-10), 715–731.
54. Neustein SM, Kahn P, Krellenstein DJ, Cohen E. Incidence of arrhythmias after thoracic surgery: thoracotomy versus video-assisted thoracoscopy. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 1998 Dec;12(6):659-61.
55. Conti VR, Ware DL. Cardiac arrhythmias in cardiothoracic surgery. *Chest Surg Clin N Am*. 2002 May;12(2):439-60, viii.
56. Bagheri R, Yousefi Y, Rezai R, Azemonfar V, Keshtan FG. Atrial fibrillation after lung surgery: incidence, underlying factors, and predictors. *Kardiochir Torakochirurgia Pol*. 2019 Jul;16(2):53-56. doi: 10.5114/kitp.2019.86355. Epub 2019 Jun 28. PMID: 31410090; PMCID: PMC6690155.
57. Imperatori, A., Mariscalco, G., Riganti, G. *et al*. Atrial fibrillation after pulmonary lobectomy for lung cancer affects long-term survival in a prospective single-center study. *J Cardiothorac Surg* 7, 4 (2012). <https://doi.org/10.1186/1749-8090-7-4>
58. Zhang Y, Mazgalev TN. Arrhythmias and vagus nerve stimulation. *Heart Fail Rev*. 2011 Mar;16(2):147-61. doi: 10.1007/s10741-010-9178-2.
59. Motonori Ando, Rajesh G. Katore, Yoshihiko Kakinuma, Dongmei Zhang, Fumiyasu Yamasaki, Kazuyo Muramoto, Takayuki Sato. Efferent Vagal Nerve Stimulation Protects Heart Against Ischemia-Induced Arrhythmias by Preserving Connexin43 Protein. *Circulation*. 2005;112:164–170. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.525493>
60. Huang WA, Shivkumar K, Vaseghi M. Device-based autonomic modulation in arrhythmia patients: the role of vagal nerve stimulation. *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine*. 2015 May;17(5):379. DOI: 10.1007/s11936-015-0379-9.
61. Wang, Y., Po, S. S., Scherlag, B. J., Yu, L., & Jiang, H. (2019). The role of low-level vagus nerve stimulation in cardiac therapy. *Expert Review of Medical Devices*. doi:10.1080/17434440.2019.1643234 .
62. Ohtsuka T, Imanaka K, Endoh M, Kohno T, Nakajima J, Kotsuka Y, Takamoto S. Hemodynamic effects of carbon dioxide insufflation under single lung ventilation during thoracoscopy, *Ann Thorac Surg*, 1999, vol. 68(pg. 29-33)

63. Henning RJ, Feliciano L, Coers CM. Vagal nerve stimulation increases right ventricular contraction and relaxation and heart rate. *Cardiovasc Res.* 1996 Nov;32(5):846-53.
64. Reys LG<sup>1</sup>, Ortiz-Pomales YT, Lopez N, Cheadle G, de Oliveira PG, Eliceiri B, Bansal V, Costantini TW, Coimbra R. Uncovering the neuroenteric-pulmonary axis: vagal nerve stimulation prevents acute lung injury following hemorrhagic shock. *Life Sci.* 2013 Apr 19;92(13):783-92. doi: 10.1016/j.lfs.2013.02.009. Epub 2013 Feb 22.
65. Reys LG, Ortiz-Pomales YT, Lopez N, et al. Uncovering the neuroenteric-pulmonary axis: vagal nerve stimulation prevents acute lung injury following hemorrhagic shock. *Life Sci.* 2013;92(13):783–792.
66. Tarras SL, Diebel LN, Liberati DM, Ginnebaugh K. Pharmacologic stimulation of the nicotinic anti-inflammatory pathway modulates gut and lung injury after hypoxia-reoxygenation injury. *Surgery.* 2013;154(4):841–847; discussion 847–848.
67. X. Yang, C. Zhao, Z. Gao, X. Su. A novel regulator of lung inflammation and immunity: pulmonary parasympathetic inflammatory reflex . *QJM: An International Journal of Medicine*, Volume 107, Issue 10, October 2014.
68. Fox B, Bull TB, Guz A. Innervation of alveolar walls in the human lung: an electron microscopic study, *J Anatomy*, 1980, vol. 131 (pg. 683-92)
69. Hertweck MS, Hung KS. Ultrastructural evidence for the innervation of human pulmonary alveoli , *Experientia*, 1980, vol. 36 (pg. 112-3).
70. Shi Y, Liu CH, Roberts AI, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and T-cell responses: what we do and don't know. *Cell Res.* 2006;16(2):126-133. doi:10.1038/sj.cr.7310017.
71. Griffin JD, Cannistra SA, Sullivan R, Demetri GD, Ernst TJ, Kanakura Y. The biology of GM-CSF: regulation of production and interaction with its receptor. *Int J Cell Cloning.* 1990;8 Suppl 1:35-45. doi:10.1002/stem.5530080705
72. Goletti D, Kinter AL, Hardy EC, Poli G, Fauci AS . Modulation of endogenous IL-1 beta and IL-1 receptor antagonist results in opposing effects on HIV expression in chronically infected monocytic cells. *J Immunol* 1996; **156**:3501–8.
73. Briend E, Colle JH, Fontan E, Saklani-Jusforgues H, Fauve RM . Human glycoprotein HGP92 induces cytokine synthesis in mouse mononuclear phagocytes. *Int Immunol* 1995; **7**:1753–61.
74. Schwager I, Jungi TW . Effect of human recombinant cytokines on the induction of macrophage procoagulant activity. *Blood* 1994; **83**:152–60.
75. Huleihel M, Douvdevani A, Segal S, Apte RN . Different regulatory levels are involved in the generation of hemopoietic cytokines (CSFs and IL-6) in fibroblasts stimulated by inflammatory products. *Cytokine* 1993; **5**:47–56.
76. Megyeri P, Sadowska J, Issekutz TB, Issekutz AC . Endotoxin-stimulated human macrophages produce a factor that induces polymorphonuclear

- leucocyte infiltration and is distinct from interleukin-1, tumour necrosis factor alpha and chemotactic factors. *Immunology* 1990; **69**:155–61.
77. Hamilton JA, Stanley ER, Burgess AW, Shaddock RK . Stimulation of macrophage plasminogen activator activity by colony-stimulating factors. *J Cell Physiol* 1980; **103**:435–45.
78. Campbell IK, Rich MJ, Bischof RJ, Dunn AR, Grail D, Hamilton JA . Protection from collagen-induced arthritis in granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-deficient mice. *J Immunol*, 1998; **161**:3639–44.
79. Ohta K, Yamashita N, Tajima M, *et al.* Diesel exhaust particulate induces airway hyperresponsiveness in a murine model: essential role of GM-CSF. *J Allergy Clin Immunol* 1999; **104**:1024–30.
80. Perrier S, Darakhshan F, Hajduch E. IL1 receptor antagonist in metabolic diseases: Dr Jekyll or Mr Hyde? *FEBS Lett.* 580 (27): 6289-94.
81. Granowitz EV, Santos AA, Poutsika DD *et al.* Production of interleukin 1 receptor antagonist during experimental endotoxaemia. *Lancet* 338: 1423-1424, 1991.
82. Ferguson-Smith AC, Chen YF, Newan MS, May LT. Sehgal PB, Ruddle FH. Regional localization of the interferon-beta 2/B-cell stimulatory factor 2/hepatocyte stimulation factor gene to human chromosome 7p15-p21. *Genomics*. Vol 2, Issue 3, april 1988, pages 203-208.
83. Tanaka T, Kishimoto T. Targeting Interleukin 6: all the way to triat autoimmune and inflammatory diseases. *Int. J. Biol. Sci* 2012; 8(9):1227-1236.
84. Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, Rose-John S. The pro and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin 6. *Biochimica et Biophysica Acta* 1813 (2011) 878-888.
85. Trapnell BC, Whitsett JA. GM-CSF regulates pulmonary surfactant homeostasis and alveolar macrophage mediated innate host defense. *Annual Review of Physiology* 2002. Vol. 64:775-802.
86. Huffman-Reed JA, Rice WR, Zsengeller ZK, Wert SE, DRanoff G, Whitsett JA. GM-CSF enhances lung growth and causes alveolar type II epithelial cell hyperplasia in transgenic mice. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 1997 273:L715-L725.
87. Hawgood S, Akiyama J, Brown C, Allen L, Li G, Poulain FR. GM-CSF mediates alveolar macrophage proliferation and type II cell hypertrophy in SP-D gene targeted mice. *Am. J. Lung Cell Mol. Physiol.* 2001. Vol 280, Issue 6 pages L1148-L1156.
88. Ferreira VL, Borba HHL, Bonetti AF, Leonart LP, Pontarolo R. Cytokines and Interferons: types and functions, auto antibodies and cytokines, Wahid Ali Khan, Intech Open . March 2018.
89. Zhang P, Quinton LJ, Bagby GJ, Summer WR, Nelson S. Interferon Y enhances the pulmonary CXC chemokine response to intratracheal

- lipopolysaccharide challenge. *The Journal of infections Diseases*. Vol. 187, Issue 1, January 2003, 62-69.
90. Nelson S, Masson CM, Volls J, Summer WR. Pathophysiology of pneumonia. *Clin Chest Med*. Vol 16 (pag 1-12).
91. Waxman J, Balkwell F(eds). *Interleukin 2*. Blackwell Sci Publ. Oxford 1992.
92. Hatakeyama M, Tsudi M, Minamoto S, Kone T, Doi T, Miyata T et al. Interleukin 2 receptor beta chain gene: generation of the three receptor forms by cloned human alpha and beta chain DNAs. *Science* 1989 244:551-556.
93. Gadani SP, Cronk JC, Norris GT, Kipnis J. IL-4 in the brain: a cytokine to remember. *J Immunol*. 2012 Nov 1;189(9):4213-9. doi: 10.4049/jimmunol.1202246. PMID: 23087426; PMCID: PMC3481177.
94. Hu-Li J, Mizuguchi SEJ, Ohara J, Mosmann T, Paul WE. B cell stimulatory factor 1 (interleukin 4) is a potent costimulant for normal resting lymphocytes. *J Exp Med*. 1987;159:7. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
95. Minshall C, Arkins S, Straza J, Connors J, Dantzer R, Freund GG, Kelley KW. IL-4 and insulin-like growth factor-I inhibit the decline in Bcl-2 and promote the survival of IL-3-deprived myeloid progenitors. *J Immunol*. 1997;159:1225–1232. [PubMed] [Google Scholar]
96. Seder RA, Paul WE, Davis MM, Fazekas de St Groth B. The presence of interleukin 4 during in vitro priming determines the lymphokine-producing potential of CD4+ T cells from T cell receptor transgenic mice. *The Journal of experimental medicine*. 1992;176:1091–1098. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
97. Hsieh CS, Heimberger AB, Gold JS, O'Garra A, Murphy KM. Differential regulation of T helper phenotype development by interleukins 4 and 10 in an alpha beta T-cell-receptor transgenic system. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89:6065–6069. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
98. Geha RS, Jabara HH, Brodeur SR. The regulation of immunoglobulin E class-switch recombination. *Nat Rev Immunol*. 2003;3:721–732. [PubMed] [Google Scholar]
99. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol*. 2003;3:23–35. [PubMed] [Google Scholar]
100. *Inmunología* Vol. 22 / Núm 2/ Abril-Junio 2003: 215-224 Interleukin-4: A multifunctional cytokine J. Zamorano, M.D. Rivas, M. Pérez-G.
101. Steinke, J.W., Borish, L. Th2 cytokines and asthma — Interleukin-4: its role in the pathogenesis of asthma, and targeting it for asthma treatment with interleukin-4 receptor antagonists. *Respir Res* 2, 66 (2001). <https://doi.org/10.1186/rr40>
102. Dinarello C.A. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. 1996;87(6):2095–2147.
103. Lopez-Castejon G, Brough D. Understanding the mechanism of IL-1 $\beta$  secretion. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2011 Aug;22(4):189-95. doi: 10.1016/j.cytogfr.2011.10.001. Epub 2011 Oct 22. PMID: 22019906; PMCID: PMC3714593.

104. Takeuchi O., Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*. 2010;140(6):805–820.
105. Piccioli P, Rubartelli A. The secretion of IL-1beta and options for release. *Semin Immunol*. 2013;25:425–429.
106. Borthwick LA. The IL-1 cytokine family and its role in inflammation and fibrosis in the lung. *Semin Immunopathol*. 2016 Jul;38(4):517-34. doi: 10.1007/s00281-016-0559-z. Epub 2016 Mar 21. PMID: 27001429; PMCID: PMC4896974.
107. Kolb M, Margetts PJ, Anthony DC, Pitossi F, Gauldie J. Transient expression of IL-1beta induces acute lung injury and chronic repair leading to pulmonary fibrosis. *J Clin Invest*. 2001;107:1529–1536.
108. Gasse P, Mary C, Guenon I, Noulin N, Charron S, Schnyder-Candrian S, et al. IL-1R1/MyD88 signaling and the inflammasome are essential in pulmonary inflammation and fibrosis in mice. *J Clin Invest*. 2007;117:3786–3799.
109. Wilson MS, Madala SK, Ramalingam TR, Gochuico BR, Rosas IO, Cheever AW, et al. Bleomycin and IL-1beta-mediated pulmonary fibrosis is IL-17A dependent. *J Exp Med*. 2010;207:535–552.
110. Iyer SS, Cheng G. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. *Crit Rev Immunol*. 2012;32(1):23-63. doi: 10.1615/critrevimmunol.v32.i1.30. PMID: 22428854; PMCID: PMC3410706.
111. Maynard CL. Contrasting roles for all-trans retinoic acid in TGF-[beta]-mediated induction of Foxp3 and Il10 genes in developing regulatory T cells. *J Exp Med*. 2009;206:343–57.
112. Maloy KJ, Powrie F. Regulatory T cells in the control of immune pathology. *Nature Immunol*. 2001;2:816–22.
113. Ouyang W, Rutz S, Crellin NK, Valdez PA, Hymowitz SG. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annu Rev Immunol*. 2011 Apr 23;29:71–109.
114. Garantziotis S, Brass DM, Savov J, Hollingsworth JW, McElvania-TeKippe E, Berman K, Walker JK, Schwartz DA. Leukocyte-derived IL-10 reduces subepithelial fibrosis associated with chronically inhaled endotoxin. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2006;35(6):662–7.
115. Zhao Y, Xiong Z, Lechner EJ, Klenotic PA, Hamburg BJ, Hulver M, Khare A, Oriss T, Mangalmurti N, Chan Y, et al. Thrombospondin-1 triggers macrophage IL-10 production and promotes resolution of experimental lung injury. *Mucosal Immunol*. 2014;7(2):440–8.
116. Loebbermann J, Schnoeller C, Thornton H, Durant L, Sweeney NP, Schuijs M, O'Garra A, Johansson C, Openshaw PJ. IL-10 regulates viral lung immunopathology during acute respiratory syncytial virus infection in mice. *PLoS One*. 2012;7(2):e32371.

117. Williams AE, Jose RJ, Brown JS, Chambers RC. Enhanced inflammation in aged mice following infection with *Streptococcus pneumoniae* is associated with decreased IL-10 and augmented chemokine production. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2015;308(6):L539–49.
118. Jones RO, Anderson NH, Murchison JT, Brittan M, Simon EJ, Casali G, et al. Innate Immune Responses After Resection for Lung Cancer via Video-Assisted Thoracoscopic Surgery and Thoracotomy. *Innovations: Technology and Techniques in Cardiothoracic and Vascular Surgery*. 2014; 9: 93– 103 <https://doi.org/10.1097/IMI.0000000000000061> PMID: 24755536
119. Agostini P, Lugg ST, Adams K, Vartsaba N, Kalkat MS, Rajesh PB, et al. Postoperative pulmonary complications and rehabilitation requirements following lobectomy: a propensity score matched study of patients undergoing video-assisted thoracoscopic surgery versus thoracotomy†. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2017; 24: 931–937 <https://doi.org/10.1093/icvts/ivx002> PMID: 28329213
120. Kaufmann KB, Heinrich S, Staehle HF, Bogatyreva L, Buerkle H, Goebel U. Perioperative cytokine profile during lung surgery predicts patients at risk for postoperative complications-A prospective, clinical study. *PLoS One*. 2018;13(7):e0199807. Published 2018 Jul 3. doi:10.1371/journal.pone.0199807
121. Heufler C1 et al. Interleukin-12 is produced by dendritic cells and mediates T helper 1 development as well as interferon-gamma production by T helper 1 cells. *Eur J Immunol*. 1996 Mar;26(3):659-68.
122. Interleukin-12: Biological Properties and Clinical Application. Michele Del Vecchio. *Clin Cancer Res* August 15, 2007 13; 4677. <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/13/16/4677.full>
123. Zundler S, Neurath MF. Interleukin-12: Functional activities and implications for disease. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2015;26(5):559-568. doi:10.1016/j.cytogfr.2015.07.003.
124. M. Kobayashi, L. Fitz, M. Ryan, R.M. Hewick, S.C. Clark, S. Chan, et al., Identification and purification of natural killer cell stimulatory factor (NKSF), a cytokine with multiple biologic effects on human lymphocytes, *J. Exp. Med*. 170 (1989) 827–845.
125. Yasuda K, Nakanishi K, Tsutsui H. Interleukin-18 in Health and Disease. *Int J Mol Sci*. 2019 Feb 2;20(3):649. doi: 10.3390/ijms20030649. PMID: 30717382; PMCID: PMC6387150.
126. Smith DE. The biological paths of IL-1 family members IL-18 and IL-33. *J Leukoc Biol* 2011;89:383–392.
127. Nakajima T, Owen CA (2012) Interleukin-18: the master regulator driving destructive and remodeling processes in the lungs of patients with

chronic obstructive pulmonary disease? Am J Respir Crit Care Med  
185:1137–1139. <https://doi.org/10.1164/rccm.201204-0590ED>