

**ESCOLA DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA**

RICARDO MEDEIROS PIANTÁ

**AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DOS MICRORNAS E NÍVEIS SÉRICOS DE CK-
MB, TROPONINA I E LACTATO COMO MARCADORES DE EVENTOS
PERIOPERATÓRIOS EM CIRURGIA CARDÍACA**

**Porto Alegre,
2018**

PÓS-GRADUAÇÃO - STRICTO SENSU



**Pontifícia Universidade Católica
do Rio Grande do Sul**

RICARDO MEDEIROS PIANTÁ

**AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DOS MICRORNAS E NÍVEIS SÉRICOS DE CK-
MB, TROPONINA I E LACTATO COMO MARCADORES DE EVENTOS
PERIOPERATÓRIOS EM CIRURGIA CARDÍACA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

ORIENTADORA

Prof^a. Dra. Denise Cantarelli Machado

CO-ORIENTADOR

Prof. Dr. João Carlos Vieira da Costa Guaragna

**Porto Alegre,
2018**

Ficha Catalográfica

P581a Piantá, Ricardo Medeiros

Avaliação da expressão dos micrnas e níveis séricos de CK-MB, troponina I e lactato como marcadores de eventos perioperatórios em cirurgia cardíaca / Ricardo Medeiros Piantá . – 2018.

121 f.

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, PUCRS.

Orientadora: Profa. Dra. Denise Cantarelli Machado.

Co-orientador: Prof. Dr. João Carlos Vieira da Costa Guaragna.

1. cardiopatia isquêmica. 2. valvopatia. 3. biomarcadores. 4. microRNAs. I. Machado, Denise Cantarelli. II. Guaragna, João Carlos Vieira da Costa. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da PUCRS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

RICARDO MEDEIROS PIANTÁ

**AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DOS MICRORNAS E NÍVEIS SÉRICOS DE CK-
MB, TROPONINA I E LACTATO COMO MARCADORES DE EVENTOS
PERIOPERATÓRIOS EM CIRURGIA CARDÍACA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Luiz Carlos Bodanese - PUCRS

Prof^a. Dra. Christina Campana Duarte - PUCRS

Prof^a. Dra. Zacher Suzane Munhoz Costa Ferro – PUCRS

Prof. Dr. Eduardo Bartholomay Oliveira – ULBRA

Prof^a. Dra. Gabriele Zanirati – PUCRS

**Porto Alegre,
2018**

AGRADECIMENTOS

À incansável, sábia e motivadora Prof^a. Dra. Denise Cantarelli Machado, mentora e incentivadora do nosso trabalho,

Ao meu querido irmão Daniel Marinowic, exemplo de pessoa bondosa, competente e abnegada em fazer o bem a qualquer momento e a qualquer um,

Ao pessoal do laboratório de Biologia Celular e Molecular, dedicados, solícitos, incessantes na busca do saber, principalmente nas pessoas dos queridos Lorenzo, Fernando, Guilherme, Rafaela, Ricardo, Laíse, João, Leise, Ana e Rafaela,

Ao ilustre Prof. Dr. João Carlos Guaragna, pelo incentivo e apoio à pesquisa,

À estudante Bruna, pela sua dedicação inabalável e interesse pelo estudo,

A todo o pessoal do Bloco Cirúrgico, das Unidades de Terapia Intensiva e Pós-Operatório de Cirurgia Cardíaca do Hospital São Lucas da PUCRS, que não mediram esforços nas coletas e envio das mesmas ao laboratório,

Às irmãs Carla e Elígia, obstinadas em procurar realizar e manter todas as coletas ordenadas com muito zelo,

Aos nossos anestesistas Celso, Palludo e Paula, sempre dispostos e engajados no nosso estudo,

Aos meus queridos mestres Petracco e Goldani, pelos exemplos de conduta, respeito ao paciente, conhecimento e parceria inabalável,

À querida Ana Cristina pela ajuda, amor e compreensão nesse período de desafio,

Ao trabalho estatístico competente e dedicado da Prof^a. Dra. Vera e do Prof. Álvaro,

À minha querida secretária e amiga Christina, pela parceria dedicada e incansável na conciliação dos meus compromissos,

Aos meus queridos e adorados filhos Caroline e Rodrigo, meus frutos mais lindos de toda a vida,

À querida mãe desses adoráveis filhos, Christina, pelo exemplo de obstinadamente querer ser melhor e nunca esmorecer,

À minha querida Mãe e ao meu querido Pai, pelas qualidades e exemplos,

À toda minha família pelo incentivo e entendimento desse momento ímpar,

A Deus, por guiar os meus caminhos, iluminar as minhas atitudes e sem o qual nada disso seria possível... Obrigado Senhor...

Se você...

*Se você é um vencedor, terá alguns falsos amigos
e alguns amigos verdadeiros. Vença assim mesmo.*

*Se você é honesto e franco, as pessoas podem enganá-lo
Seja honesto e franco assim mesmo.*

*O que você levou anos para construir
Alguém pode destruir de uma hora para outra. Construa
assim mesmo.*

*Se você tem paz e é feliz,
As pessoas podem sentir inveja. Seja feliz assim mesmo.*

*Dê ao mundo o melhor de você,
mas isso pode nunca ser o bastante. Dê o melhor de você
assim mesmo.*

*Veja você que, no final de tudo
Será você ... e Deus.*

E não você ... e as pessoas!

Madre Tereza de Calcutá

RESUMO

As doenças cardiovasculares são prevalentes mundialmente e, no Brasil, são responsáveis pela principal causa de mortalidade, superando as neoplasias e as doenças pulmonares. Elas são responsáveis por 34% das causas de morte, com dados semelhantes em toda a América. As doenças cardiovasculares mais significativas são a cardiopatia isquêmica, o acidente vascular encefálico, a insuficiência cardíaca e a hipertensão arterial sistêmica.

A estratificação de risco dos pacientes submetidos à cirurgia cardíaca abrange principalmente os fatores de risco pré-operatórios. Entretanto, durante o transoperatório, vários fatores, incluindo a técnica cirúrgica, a proteção miocárdica e a própria circulação extracorpórea podem modificar o destino do pós-operatório. Portanto, a monitorização transoperatória desses fatores e uma intervenção precoce podem melhorar os resultados na cirurgia cardíaca.

Em pacientes que são submetidos à cirurgia cardíaca, a elevação de biomarcadores séricos indica lesão e até mesmo necrose miocárdica, sendo que a magnitude do aumento da concentração do biomarcador provavelmente esteja relacionada com um desfecho desfavorável. A medida dos níveis sanguíneos de lactato também pode ser usada como um marcador para avaliar a adequada perfusão tecidual, fornecendo uma indicação da magnitude do metabolismo anaeróbico e da deficiência de oxigenação tecidual.

Os microRNAs (miRNAs) fazem parte de uma classe de RNAs endógenos, não codificadores de proteínas, que atuam como potentes reguladores pós-transcricionais da expressão gênica. Além disso, os miRNAs apresentam características que os tornam bons biomarcadores, como alto grau de sensibilidade e especificidade, permitindo a detecção precoce de estados patológicos, além de se alterarem de acordo com o curso da doença e têm uma longa meia-vida na amostra, sendo rapidamente detectados em laboratório.

O presente estudo identificou o comportamento dos biomarcadores cardíacos CK-MB, troponina I e lactato em 115 pacientes submetidos à cirurgia cardíaca e sua correlação com os desfechos desfavoráveis. Em 24 desses pacientes foi analisada a expressão dos miRNAs 1, 133a e 499 e estabelecida a correlação entre esses dois grupos de marcadores. Foi identificada correlação do miRNA-1 com a troponina I ($r=0,4893$, $P=0,0025$) e com o lactato ($r=0,5689$, $P=0,0002$), que apontou para a

primeira evidência de que um miRNA se relaciona com o estado de hipoperfusão e oxigenação tecidual, monitorados pelo lactato sérico. Esses dados permitirão que se explore, em futuros estudos, o potencial desses complexos nucleotídeos para o diagnóstico, monitoramento e terapia das mais diversas patologias e cirurgias cardíacas.

Palavras-Chave: cardiopatia isquêmica, valvopatia, biomarcadores, microRNAs.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are one of the most prevalent diseases worldwide and the main cause of mortality in Brazil. They are responsible for 34% of the deaths in America. The most prevalent cardiovascular disorder are ischemic heart disease, stroke, cardiac insufficiency and arterial systemic hypertension.

The risk stratification for patients submitted to cardiac surgery comprehends pre operative risks, mainly. However, during intraoperative period several factors, including surgical technique, myocardial protection and cardiopulmonary bypass may interfere in post-operative results. Thus, intraoperative monitoring and early intervention may improve cardiac surgery outcomes.

The increase of serum biomarkers levels indicates myocardial lesion and even necrosis in subjects submitted to cardiac surgery. The biomarker concentration may be related to an adverse outcome. Blood level measures of lactate can also be used as a marker to assess adequate tissue perfusion; providing the magnitude of anaerobic metabolism and tissue oxygenation deficiency.

The microRNAs (miRNAs) are part of a non-coding endogenous class of RNAs that act as potent post-transcriptional regulators of gene expression. Moreover, miRNAs present characteristics that make them good biomarkers with high levels of sensibility and specificity allowing early detection of pathological states. In addition, they also change in accordance to the disease course and have a long half-life in the sample enabling an easy laboratory detection.

This study identified the profile of cardiac biomarkers such as CK-MB, troponin I and lactate in 115 patients submitted to cardiac surgery and its correlation with the outcome. It was analyzed the expression of miRNAs 1, 133a and 499 expression in 24 individuals as well as the correlation between the biochemical and molecular biomarkers. A correlation of miRNA-1 with troponin I ($r = 0.4893$, $P = 0.0025$) and lactate ($r = 0.5689$, $P = 0.0002$) was found, which pointed to the first evidence that a miRNA is related to the state of hypoperfusion and tissue oxygenation, monitored by serum lactate. These data will allow the potential of these complex nucleotides to be explored in future studies for the diagnosis, monitoring and therapy of the most diverse pathologies and cardiac surgeries.

Keywords: ischemic heart disease, valvular heart disease, biomarkers, microRNAs.

LISTA DE FIGURAS

_Toc510640717

Figura 1. Biogênese e função dos miRNAs (ref. 12).	21
Figura 2. Mecanismos de regulação gênica pelos miRNAs (ref. 12).	22
Figura 3. Diagrama esquemático dos mecanismos de interações dos miRNAs entre os órgãos. (16)	23
Figura 4. Diagrama esquemático das funções dos miRNAs na diferenciação de células tronco embrionárias em cardiomiócitos. Adaptado de (18)	23
Figura 5. Ficha de registro das coletas das amostras de sangue periférico.	37
Figura 6. Fluxograma de coleta das amostras e destino para os laboratórios de bioquímica e de biologia celular e molecular.	39
Figura 8. Concentração média dos níveis séricos de CK-MB nos diferentes períodos de coleta nos dois grupos de cirurgia.	46
Figura 9. Concentração média dos níveis séricos de lactato nos diferentes períodos de coleta nos dois grupos de cirurgia.	47
Figura 10. Expressão de positividade das quantificações dos miRNAs.	49
Figura 11. Expressão relativa dos miRNAs nos diferentes períodos analisados. (^{**} p<0,005; #p<0,05). PD – Pós-desclampamento.	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de referência dos biomarcadores séricos de injúria miocárdica e perfusão tecidual.	31
Tabela 2. Características pré-operatórias dos grupos conforme tipo de cirurgia.	42
Tabela 3. Dados trans e pós-operatórios dos grupos conforme tipo de cirurgia.	43
Tabela 4. Média e desvio padrão dos níveis séricos de CK-MB no perioperatório. ...	44
Tabela 5. Média e desvio padrão dos níveis séricos de troponina I no perioperatório.	45
Tabela 6. Média e desvio padrão dos níveis séricos de lactato no perioperatório. ...	45
Tabela 7. Comparação e correlação das medianas da CK-MB (U/L) com as variáveis perioperatórias nos pacientes submetidos à CRM.	81
Tabela 8. Comparação e correlação das medianas da CK-MB (U/L) com as variáveis perioperatórias nos pacientes submetidos à cirurgia de troca valvar.	83
Tabela 9. Comparação e correlação das medianas da Troponina I (pg/mL) com as variáveis perioperatórias nos pacientes submetidos à CRM.	85
Tabela 10. Comparação e correlação entre as medianas da Troponina I (pg/mL) com as variáveis perioperatórias nos pacientes submetidos à cirurgia de troca valvar.	87
Tabela 11. Comparação e correlação das medianas do Lactato (mmol/L) com as variáveis perioperatórias nos pacientes submetidos à CRM.	89
Tabela 12. Comparação e correlação das medianas do Lactato (mmol/L) com as variáveis perioperatórias nos pacientes submetidos à cirurgia de troca valvar.	91

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Aneurisma de aorta
ADP	Difosfato de adenosina
ATP	Trifosfato de adenosina
AUC	Area under curve
AVC	Acidente vascular cerebral
BIA	Balão intra-aórtico
CEC	Circulação extracorpórea
CI	Cardiopatia isquêmica
CK	Creatinaquinase
CK-MB	Creatinaquinase fração MB
CRM	Cirurgia de Revascularização do Miocárdio
DAC	Doença arterial crônica
DM	Diabetes mellitus
DRC	Doença renal crônica
EuroScore	European System for Cardiac Operative Risk Evaluation
EVA	Estenose da valva aórtica
EVM	Estenose da valva mitral
FE	Fração de ejeção
FEVE	Fração de ejeção do ventrículo esquerdo
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HUNT	Nord Trøndelag Health Study
IAM	Infarto agudo do miocárdio
ICC	Insuficiência cardíaca congestiva
IRA	Insuficiência renal aguda
IRC	Insuficiência renal crônica
IVA	Insuficiência da valva aórtica
IVM	Insuficiência da valva mitral
miRNA	MicroRNA
min	minuto
ng/L	nanograma por litro

ng/mL	nanograma por mililitro
NYHA	New York Heart Association
OR	odds ratio
PCr	Fosfocreatina
PCR	Polymerase chain reaction
PDA	Pós-desclampamento da aorta
pg/mL	picograma por mililitro
PO	Pós-operatório
PUCRS	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
RNA	Ácido ribonucleico
RR	Risco relativo
TnI	Troponina I
TVA	Troca valvar aórtica
TVM	Troca valvar mitral
UTI	Unidade de Tratamento Intensivo
VA	Valva aórtica
VA Risk Score	Veterans Affairs Risk Score
VE	Ventrículo esquerdo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1 EPIDEMIOLOGIA.....	19
2.2 Os microRNAs	19
2.2.1 Aspectos históricos	20
2.2.2 Biogênese dos miRNAs	20
2.3 O LACTATO COMO MARCADOR DE PERFUSÃO TECIDUAL.....	25
2.4 MARCADORES BIOQUÍMICOS DE LESÃO MIOCÁRDICA	28
2.5 RELAÇÃO DOS MARCADORES BIOQUÍMICOS DE LESÃO MIOCÁRDICA COM OS MIRNAS.....	30
3 HIPÓTESE CONCEITUAL	32
4 OBJETIVOS	33
4.1 OBJETIVO GERAL	33
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
5 JUSTIFICATIVA / RACIONALIZAÇÃO DO ESTUDO	34
6 MATERIAL E MÉTODOS	35
6.1 DELINEAMENTO	35
6.2 ASPECTOS ÉTICOS	35
6.3 POPULAÇÃO EM ESTUDO	35
6.3.1 Critérios de Inclusão	36
6.3.2 Critérios de Exclusão	36
6.4 COLETAS DAS AMOSTRAS	36
6.5 QUANTIFICAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DOS miRNAs	37
6.6 VARIÁVEIS DO ESTUDO	39
6.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	40
6.7.1 Cálculo amostral	40
6.7.2 Análise dos dados.....	40
7 RESULTADOS	42
7.1. NÍVEIS SÉRICOS DOS BIOMARCADORES CK-MB, TROPONINA I E LACTATO NO SANGUE PERIFÉRICO DOS PACIENTES SUBMETIDOS À CIRURGIA CARDÍACA COM CEC	44

7.2 RELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DOS BIOMARCADORES CK-MB, TROPONINA I E LACTATO COM AS VARIÁVEIS PERIOPERATÓRIAS DOS PACIENTES SUBMETIDOS À CIRURGIA CARÍACA COM CEC.....	47
7.3 PERFIL DE EXPRESSÃO RELATIVA DOS miRNAs-1, 133a e 499 NOS LEUCÓCITOS DO SANGUE PERIFÉRICO DOS PACIENTES SUBMETIDOS À CIRURGIA CARDÍACA COM CIRCULAÇÃO EXTRA-CORPÓREA.....	48
7.4 RELAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DOS BIOMARCADORES CK-MB, TROPONINA I E LACTATO COM A EXPRESSÃO RELATIVA DOS miRNAs	50
8 DISCUSSÃO	52
8.1 PERSPECTIVAS.....	62
9 CONCLUSÕES	63
10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
ANEXOS	71
ANEXO 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	72
ANEXO 2 - TERMO DE COMPROMISSO PARA UTILIZAÇÃO DE DADOS	74
ANEXO 3 - APROVAÇÃO DO CEP	75
APÊNDICES	80
APÊNDICE 1 - TABELAS	81
APÊNDICE 2 - ARTIGO ORIGINAL	93

1 INTRODUÇÃO

A isquemia do miocárdio ocorre quando a perfusão ofertada pelo fluxo coronariano é inadequada para suprir as necessidades metabólicas, comprometendo a liberação de oxigênio e demais nutrientes para os cardiomiócitos e prejudicando a remoção de produtos inadequados. Ela é mais frequentemente causada pelo estreitamento ou obstrução de uma artéria coronária, secundária à aterosclerose. Outras condições não ateroscleróticas também podem levar à obstrução das artérias coronárias, tais como as doenças autoimunes (lúpus e artrite reumatoide), vasculites (doenças de Buerger e Kawasaki), displasia fibromuscular e em consequência de dissecação, espasmo ou embolia.

Os principais fatores de risco para a doença arterial coronariana (DAC) são o tabagismo, a obesidade, a hipertensão, o Diabetes mellitus (DM), o sedentarismo, a idade (>45 anos para homens e >55 anos para mulheres), a história familiar de DAC e o nível de colesterol HDL < 40mg/dL. Entretanto, existem alguns indivíduos sem DAC, mas que apresentam riscos de eventos cardiovasculares equivalentes àqueles com DAC estabelecida e que devem ser manejados tão agressivamente como estes. Essas condições incluem indivíduos com doença aterosclerótica não coronariana, como a doença carotídea, a doença arterial periférica e o aneurisma de aorta abdominal, que apresentam o risco de desenvolver DAC acima de 20% em 10 anos. A hiperglicemia independente de DM como doença de base e a doença renal crônica estão associadas com um aumento substancial no risco de desenvolvimento de DAC (1).

Atualmente é recomendado que um *heart team*, composto por cardiologista, cirurgião cardíaco e cardiologista intervencionista decida, com base nos exames diagnósticos, qual a melhor opção terapêutica para o paciente portador de cardiopatia isquêmica, optando-se pelo tratamento clínico, pela angioplastia percutânea ou pela CRM. As últimas diretrizes brasileiras com as indicações para CRM são do ano de 2004 (2) com uma promessa de atualização em 2012, entretanto não concluída até o presente momento. Portanto, preferimos utilizar como critérios de indicação para CRM as diretrizes europeia (3) e americana (4) que são de 2014 e 2017, respectivamente, e que recomendam o melhor tratamento para a

cardiopatia isquêmica com base na sintomatologia, uso de medicamentos antianginosos e exames diagnósticos.

A estenose da valva aórtica (EVA) é a doença valvar mais prevalente em adultos, acometendo cerca de 2% da população acima dos 65 anos e 4% acima dos 85 anos. A causa mais frequente da estenose da valva aórtica é a calcificação degenerativa dos seus folhetos, que decorre dos níveis elevados de lipoproteína de baixa densidade (LDL), DM, tabagismo e hipertensão. A etiologia congênita da estenose mais frequente e que acomete cerca de 2% da população é a arquitetura anormal da valva aórtica (VA), bicúspide ou unicomissural, que leva a um fluxo turbulento que agride os folhetos, levando à fibrose, aumento da rigidez, calcificação dos folhetos e estreitamento do orifício da VA. Em países desenvolvidos, a etiologia reumática é a menos comum e a fibrose difusa com espessamento dos folhetos leva à fusão de uma ou mais comissuras.

Na estenose da valva aórtica é importante que se reconheça precocemente o aparecimento dos sintomas, pois ocorre uma piora dramática no prognóstico do paciente, aumentando o risco de morte súbita e acarretando uma média de sobrevida de dois a três anos, se não houver uma intervenção cirúrgica. Dos 35% dos pacientes com angina, 50% sobrevivem em 5 anos. Dos 15% que se apresentam com síncope, 50% sobrevivem em 3 anos e dos que se apresentam com insuficiência cardíaca congestiva (ICC), 50% sobrevivem em 2 anos (5). As indicações para o tratamento cirúrgico da EVA severa e moderada são orientadas pelos *guidelines* brasileiro, europeu e americano existentes (6–9) e podem ocorrer independentemente da sintomatologia.

A insuficiência da valva aórtica (IVA) ocorre pelo refluxo de sangue da aorta para dentro do ventrículo esquerdo (VE), devido à falha de coaptação dos folhetos da valva no início da diástole. Segundo o estudo Framingham, numa coorte de mais de 10.000 pacientes, algum grau de severidade de insuficiência aórtica, entre os 28 e 62 anos de idade foi encontrada em 13% dos homens e 8,5% das mulheres. Pode ser dividida em uma apresentação aguda, cujas principais causas são a endocardite infecciosa, a dissecção aórtica e o trauma e uma forma crônica, na qual preponderam etiologicamente a valva aórtica bicúspide, a degeneração dos folhetos por calcificação ou por doença mixomatosa, o acometimento reumático, a dilatação

da aorta ascendente e as doenças do tecido conectivo, como as síndromes de Marfan e Ehlers-Danlos e a doença de Reiter (5).

A IVA apresenta uma longa fase assintomática, desenvolvendo-se de maneira lenta e insidiosa, com uma morbidade muito baixa. Entretanto, quando os pacientes começam a exibir sintomas, a mortalidade se eleva para cerca de 10-20%/ano, e passa a ser caracterizada a indicação cirúrgica para sua correção. Outro fator de pior prognóstico na IVA severa e que embasa o tratamento cirúrgico, mesmo em pacientes assintomáticos, é a redução da função sistólica do VE para menos de 50% em repouso. As demais indicações seguem as orientações dos *guidelines* citados anteriormente na EVA (6–9).

A estenose da valva mitral (EVM) é geralmente resultado de um acometimento reumático do coração e em cerca de 50 a 60% dos pacientes pode ser obtida uma história de febre reumática, que é mais prevalente em mulheres, numa relação de 2:1 a 3:1. Ocorre fusão das comissuras, fibrose dos folhetos com perda da mobilidade e retração, fusão e encurtamento das cordoalhas. Outras causas de EVM são a calcificação do anel e dos folhetos, a presença de um trombo no átrio esquerdo e uma comissurotomia prévia ou prótese implantada previamente.

Como a EVM se desenvolve gradualmente, os pacientes permanecem assintomáticos por muitos anos. Os sintomas que eventualmente aparecem estão associados com a congestão venosa pulmonar ou com o baixo débito cardíaco, como a dispneia aos esforços, ortopneia, dispneia paroxística noturna e cansaço. À medida que a estenose progride e a área valvar situa-se entre 1 e 2 cm², os pacientes se tornam mais sintomáticos com menos esforço (5). As diretrizes atuais recomendam valvuloplastia mitral percutânea com cateter-balão ou cirurgia de troca valvar de acordo com critérios clínicos e ecocardiográficos (6–9).

Finalmente, a insuficiência da valva mitral (IVM) é a quinta patologia tratada cirurgicamente nesse estudo e ocorre por retração dos folhetos devido à fibrose e calcificação, dilatação do anel mitral, alterações nas cordoalhas (ruptura, alongamento ou encurtamento) e disfunção ventricular esquerda com ou sem envolvimento dos músculos papilares. Como causas mais frequentes encontram-se o acometimento degenerativo dos folhetos, o prolapso, a degeneração mixomatosa (doença de Barlow), a doença reumática, a endocardite e o trauma com rompimento

de cordoalhas. As diretrizes para o tratamento da IVM encontram-se referenciadas nas mesmas de doença valvar citadas acima.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 EPIDEMIOLOGIA

As cardiopatias isquêmica e valvar são doenças prevalentes no mundo e no Brasil são responsáveis, juntamente com as doenças cardiovasculares, pela principal causa de mortalidade, superando as neoplasias e as doenças pulmonares. Elas são responsáveis, em números redondos, por 34% das causas de morte, com dados semelhantes em toda a América. Isto representa, no Brasil, 350.000 óbitos por ano ou 820 por dia. As doenças cardiovasculares mais significativas são a cardiopatia isquêmica (CI), o acidente vascular encefálico (AVE), a insuficiência cardíaca (IC) e a hipertensão arterial sistêmica (HAS) (10).

Dados estatísticos mais recentes dos países europeus e publicados em 2017 apontam que as doenças cardiovasculares, sobretudo a CI e o AVE, são responsáveis por cerca de 48% dos óbitos em mulheres e 40% em homens (11).

A cirurgia de revascularização do miocárdio (CRM), que em 2014 comemorou o seu 50º aniversário desde o seu advento, tem por objetivo aliviar os sintomas e melhorar a qualidade de vida dos pacientes (3).

A febre reumática é a principal causa das valvopatias no Brasil, sendo responsável por até 70% dos casos. A prevalência de cardite reumática é estimada entre 1 e 7 casos/1.000 habitantes no Brasil, ao passo que nos Estados Unidos da América a prevalência situa-se entre 0,1 e 0,4 casos/1.000 escolares (6). É a terceira patologia cardíaca mais frequente no Brasil, ficando atrás da HAS e da CI (10). O aumento da expectativa de vida da população tem permitido que se identifiquem índices elevados de calcificação e disfunção valvar.

2.2 Os microRNAs

Os microRNAs (miRNAs) são uma classe de RNAs endógenos, pequenos (19-23 nucleotídeos), não codificadores de proteínas e que agem como potentes

reguladores pós-transcricionais da expressão gênica. Os miRNAs representam somente uma pequena fração (0,01%) de todo o conteúdo de RNA celular (12).

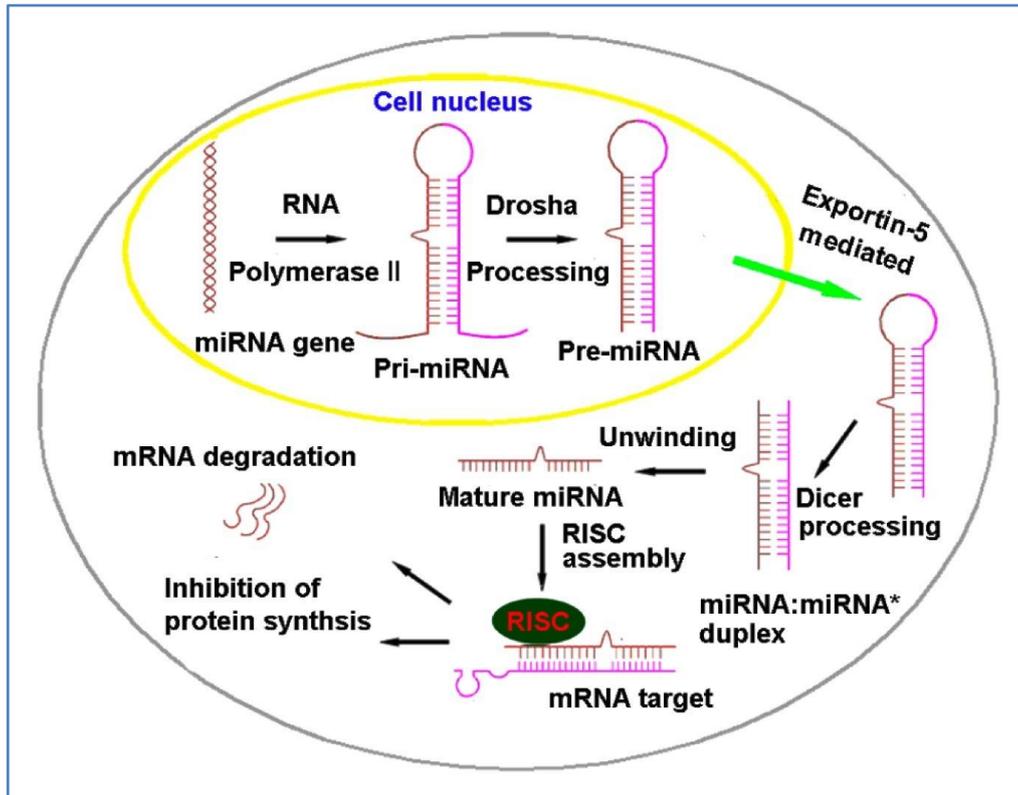
2.2.1 Aspectos históricos

O primeiro micro-RNA foi descrito em 1993, *lin-4*, estando associado à regulação do desenvolvimento larval de *Caenorhabditis elegans*, um nematódio com cerca de 1 mm de comprimento (13). Em 2000, foi descoberto o segundo miRNA, o *let-7*.

Finalmente em 2001 foi descrito o termo microRNA na revista científica *Science*, sendo descritos mais de 100 novos genes (humanos, *Drosophila* e *Caenorhabditis*) (14).

2.2.2 Biogênese dos miRNAs

Na sua biogênese, inicialmente os genes dos miRNAs de regiões intra ou inter gênicas são transcritos no núcleo da célula em miRNAs primários (pri-miRNAs), por ação da enzima polimerase II, possuindo uma extremidade cap 5' e uma cauda poli-A. A seguir, ainda no núcleo da célula, os pri-miRNAs são clivados por um complexo nuclear formado pela ribonuclease III Drosha e seu cofactor DGCR8 (*DiGeorge syndrome critical region in gene 8*), formando estruturas com 70 a 100 nucleotídeos, os chamados pré-miRNAs (15). Os pré-miRNAs são então transportados para o citoplasma por ação de uma proteína de exportação nuclear denominada exportina-5, que utiliza RanGTP como cofator. Já no citoplasma, os pré-miRNAs são clivados por uma segunda ribonuclease III, a Dicer, gerando miRNAs de fita dupla com cerca de 22 nucleotídeos (Figura 1) (12,15). Cada fita é composta por um monofosfato 5', um grupo hidroxila 3' e dois nucleotídeos salientes na extremidade 3'.



miRNA-microRNA, RNA-Ácido ribonucleico, RNAm-Ácido ribonucleico mensageiro, RISC-Complexo indutor do silenciamento do RNA.

Figura 1. Biogênese e função dos miRNAs (ref. 12).

Após sua separação, um dos filamentos torna-se uma molécula madura de miRNA que é incorporada ao complexo RISC (*RNA-induced silencing complex*), ao passo que o outro filamento de miRNA é frequentemente degradado ou exerce um papel funcional na regulação da homeostase do miRNA. O complexo RISC regula a expressão gênica por dois mecanismos pós-transcricionais: a degradação e a repressão da tradução do RNA mensageiro (mRNA) alvo (Figura 2).

O microRNA (miRNA) atua sobre o mRNA, podendo inibir a sua síntese proteica, reprimir a sua tradução ou induzir à sua degradação. O genoma humano codifica mais de 1.000 miRNAs. O número estimado de mRNA é de cerca de 30.000, portanto 01 miRNA pode regular centenas de mRNA (15).

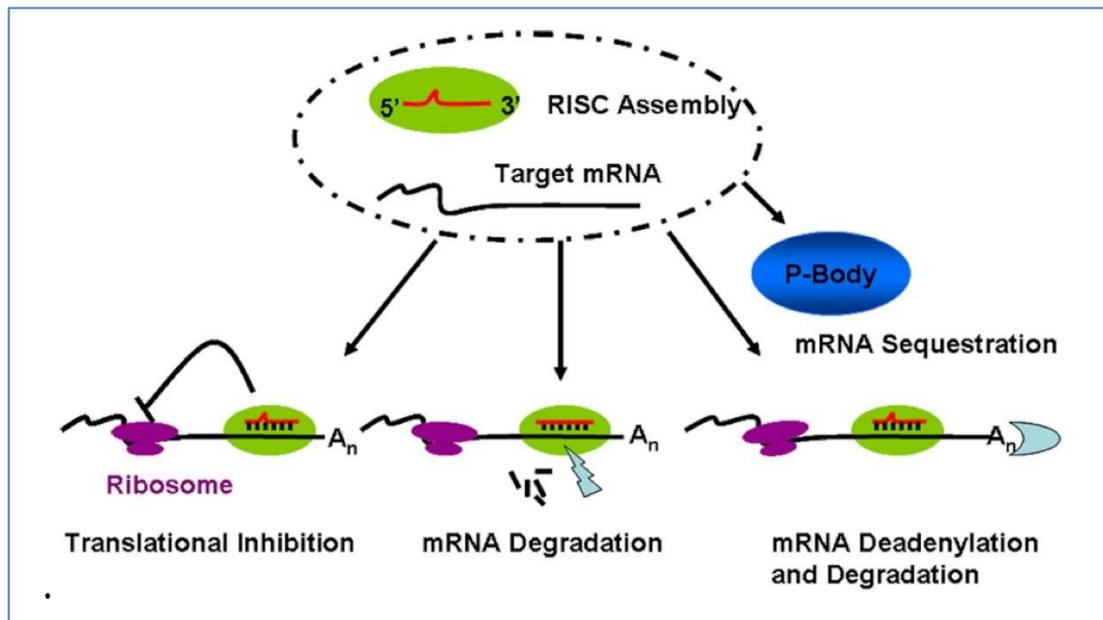


Figura 2. Mecanismos de regulação gênica pelos miRNAs (ref. 12).

A estabilidade dos miRNAs e a sua resistência à degradação promovida pela atividade das RNases é explicada pelo fato de que eles residem na estrutura da membrana de microvesículas, tais como os exossomos, micropartículas e corpos apoptóticos e pela sua associação com as proteínas nucleofosmin 1 e argonauta 2 (12). Os miRNAs também circulam ligados a lipoproteínas complexas, como o HDL e o LDL (Figura 3) (16).

As funções dos miRNAs estão relacionadas com a regulação crucial de vários processos biológicos, incluindo o desenvolvimento, diferenciação, proliferação e apoptose celular. Eles são implicados na resposta imune, na secreção de insulina, na síntese de neurotransmissores, no ritmo circadiano e na replicação viral (12).

Os miRNAs 1, 133a e 133b são específicos do sistema muscular e são imprescindíveis para a diferenciação do músculo cardíaco, sendo que o miRNA-126 exerce papel de destaque no processo de angiogênese durante o desenvolvimento do coração. Já o miRNA-499 controla a expressão dos genes relacionados com a função contrátil dos cardiomiócitos. Específicos do músculo cardíaco, os miRNAs 1, 133a e 499 são responsáveis pela diferenciação dos precursores mesodérmicos e na reprogramação dos fibroblastos e miofibroblastos em cardiomiócitos maduros. Também participam da modulação gênica que ocorre no coração quando submetido à isquemia e reperfusão e, em longo prazo, estão envolvidos nos processos de

fibrose e hipertrofia, responsáveis pelo remodelamento cardíaco pós-IAM (Figura 4) (17,18).

Ago-Argonaute 2, MVB-Microvesicles Bodies, NPM1-Nucleophosmin 1

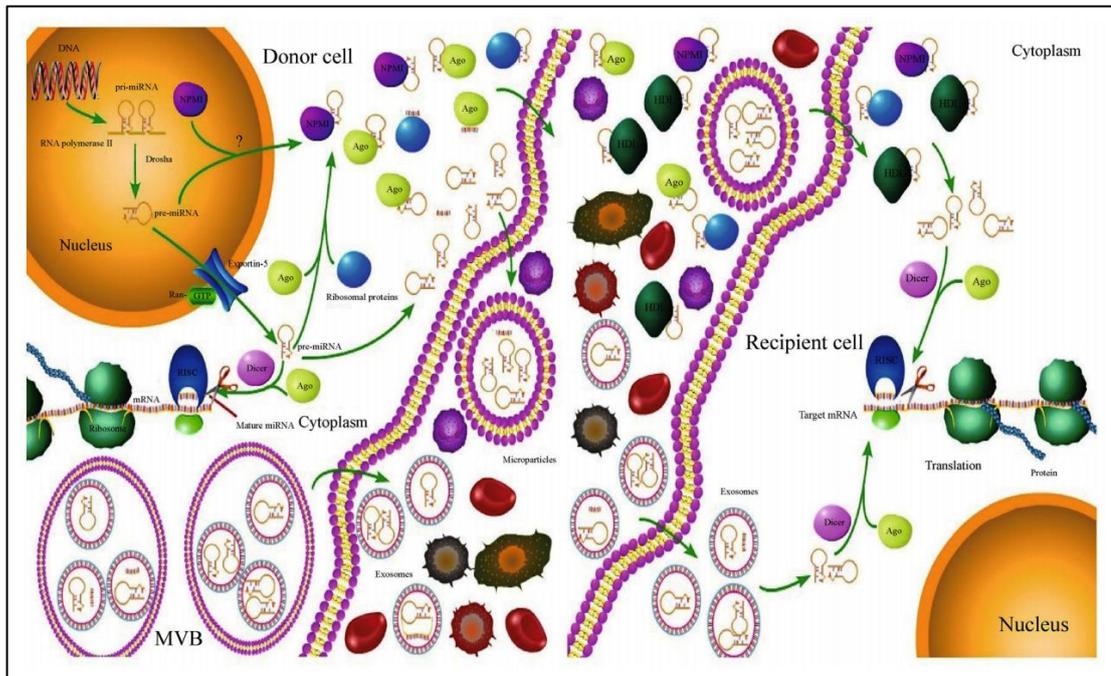


Figura 3. Diagrama esquemático dos mecanismos de interações dos miRNAs entre os órgãos. (16)

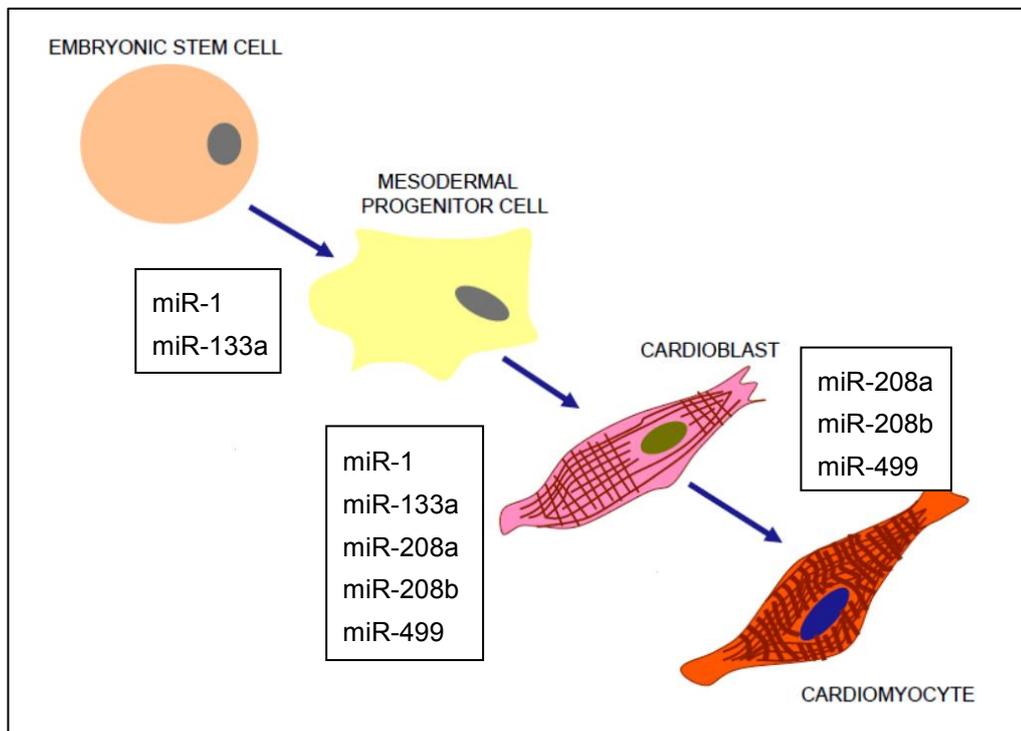


Figura 4. Diagrama esquemático das funções dos miRNAs na diferenciação de células tronco embrionárias em cardiomiócitos. Adaptado de (18)

Os miRNAs parecem estar relacionados com a etiologia da cardiopatia isquêmica, principalmente os miRNAs 21, 27b, 130a, 134 e 210. Nas arritmias (miRNAs 1 e 133) e na insuficiência cardíaca (miRNAs 29b, 122 e 423-5p) também têm sido encontradas expressões elevadas desses RNAs.

Várias outras patologias tem apresentado alterações nos níveis dos miRNAs, tais como o acidente vascular encefálico (miRNAs 124 e 145), o infarto agudo do miocárdio (miRNAs 1, 133, 134, 208a, 328 e 499), o Diabetes mellitus (miRNAs 9, 28-3p, 29a e 124a), a aterosclerose, causando doenças vasculares (130a, 27b e 210) e a hipertensão arterial (hcmv-miR-UL 112 e Let-7e) (19-26).

Também nos aneurismas de aorta (AA) os miRNAs (21, 26a, 126, 143/145, 205, 663 e 712) estão envolvidos na regulação da inflamação vascular e exercem importante papel no seu desenvolvimento. Os miRNAs apresentam características que os tornam bons biomarcadores, como alto grau de sensibilidade e especificidade, permitindo a detecção precoce de estados patológicos, sofrem alterações relacionadas com o curso da doença e têm uma longa meia-vida na amostra, sendo facilmente detectados em laboratório. Importante ressaltar que vários miRNAs têm sido estudados para o tratamento do AA em experimentos com animais, tanto restaurando a expressão dos miRNAs reduzidos por ação dos *miR-mimics*, como pela inibição de miRNAs elevados pela ação dos *antagomirs* (27,28).

O primeiro experimento em humanos com o emprego dos antagonistas dos miRNAs foi o uso do Miravirsen, que é um anti-miR-122 para o tratamento da hepatite C. O miR-122 é abundante no fígado e está envolvido no processo de replicação do vírus da hepatite C. Em um estudo multicêntrico, 36 pacientes portadores de hepatite C crônica receberam injeções subcutâneas semanais por um período de 29 dias e foram seguidos por um tempo médio de 35 meses, não sendo detectado, em nenhum dos 27 pacientes tratados com o anti-miR-122 a ocorrência de hepatocarcinoma celular, nem complicações relacionadas com a cirrose (ascite, icterícia, sangramento de varizes esofágicas e encefalopatia hepática) (29).

No território cardiovascular existem algumas barreiras a serem transpostas para o emprego dos miRNAs como agentes terapêuticos. Enquanto o miRNA-122 exhibe uma especificidade tecidual bem definida, a maioria dos miRNAs identificados como possíveis alvos de terapia cardiovascular apresentam uma distribuição em vários tecidos, tornando desafiadora a tarefa de sofrerem os efeitos desejados. Além

disso, os anti-miRs se acumulam predominantemente no fígado e nos rins, contornando a necessidade de um alvo tecidual específico (30).

Além da detecção dos níveis séricos dos miRNAs pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), também foi detectada a presença de miRNA-1 na urina de pacientes submetidos à cirurgia de valva mitral sob circulação extracorpórea (CEC), podendo ser usado como um marcador de injúria miocárdica em pacientes submetidos a cirurgias com CEC. Nesse mesmo estudo foram encontradas correlações positivas entre os níveis séricos de troponina I e os níveis, tanto séricos, como na urina, do miRNA-1 (31).

Igualmente, os miRNAs têm sido relacionados com a etiologia, progressão e prognóstico de vários tipos de câncer, sendo utilizados como biomarcadores para a sua classificação, estadiamento, progressão e avaliação da resposta ao tratamento. O miRNA-21, por exemplo, é encontrado elevado em cerca de 80% de amostras tumorais.

Os miRNAs podem atuar como oncogenes. O miRNA-155 está relacionado com vários linfomas (Hodgkin e Burkitt) e leucemia linfocítica crônica, conferindo um pior prognóstico. O miRNA-17-92 está elevado nos linfomas e cânceres de pulmão. Esses ribonucleotídeos também atuam como supressores de tumores, pois quando a expressão de determinados miRNAs está diminuída nas células malignas, eles inibem os oncogenes ou genes que inibem a diferenciação celular ou a apoptose (8).

Como a liberação dos miRNAs armazenados nos exossomos, nas micropartículas ou nos corpos apoptóticos, para a circulação depende de algum grau de injúria tecidual (19), a hipoperfusão, acarretando isquemia, pode ser um mecanismo responsável por desencadear essa reação de liberação (25).

2.3 O LACTATO COMO MARCADOR DE PERFUSÃO TECIDUAL

A hipoperfusão tecidual está associada com a acidose láctica, secundária ao metabolismo anaeróbico. Sob esta condição, não ocorre a fosforilação oxidativa e o ATP é produzido a partir do metabolismo do piruvato em lactato (32). Portanto, a medida dos níveis sanguíneos de lactato pode ser usada como um marcador para

avaliar a adequada perfusão tecidual, fornecendo uma ideia da magnitude do metabolismo anaeróbico e da deficiência de oxigenação tecidual (32,33).

Durante a circulação extracorpórea (CEC), a perfusão tecidual se encontra sob risco, sendo influenciada pela própria duração da CEC, pelo grau de hipotermia, pela duração do resfriamento e aquecimento do paciente, pela estratégia de manejo do pH, pelo valor do hematócrito e pela ação de drogas inotrópicas. A resposta inflamatória sistêmica à CEC também pode comprometer a oxigenação tecidual, sobretudo, a extração de oxigênio dos tecidos (33). Existem evidências de que a não normalização dos níveis de lactato após 24 horas, em cirurgia cardíaca para correção de defeitos congênitos, acarretaria um pior prognóstico e aumento da mortalidade (34).

A estratificação de risco dos pacientes submetidos à cirurgia cardíaca abrange principalmente os fatores de risco pré-operatórios. Entretanto, durante o transoperatório, como citado acima, vários fatores, incluindo a técnica cirúrgica, a proteção miocárdica e a própria CEC podem modificar o destino do pós-operatório. Portanto, a monitorização transoperatória desses fatores e uma intervenção precoce (aumento da hemoglobina ou do fluxo sanguíneo da bomba, por exemplo) podem melhorar os resultados na cirurgia cardíaca (32).

Nesse sentido é que o lactato, produto do metabolismo anaeróbico pode estar associado com algum tipo de miRNA e o comportamento destes pequenos complexos nucleotídicos pode prever algum grau de hipoperfusão tecidual. Este conhecimento prévio à cirurgia poderia orientar para que medidas sejam tomadas visando o bloqueio de sua ativação e o consequente risco de liberação do lactato.

Isto também se respalda no fato de que a hipóxia tecidual ativa uma série de processos, tais como a inflamação, a angiogênese, a morte celular por apoptose, autofagia e necrose, além de fibrose e hipertrofia. A literatura tem identificado alterações na expressão de diversos miRNAs em todos esses eventos, os quais podem ser liberados na circulação, atuando como novos e sensíveis biomarcadores de injúria cardíaca (35).

Nas cirurgias cardíacas, as evidências que existem a respeito do impacto deletério do lactato no pós-operatório são escassas e se restringem mais ao pós-operatório em crianças (34,36). Em adultos, Shinde et al (33) evidenciaram que

pacientes submetidos a cirurgias valvares e que apresentaram níveis de lactato >4,0 mmol/L estavam predominantemente em classe IV da *New York Heart Association* (NYHA) e tiveram a duração da CEC maior do que 1 hora. Com relação a pacientes submetidos à revascularização miocárdica, as evidências de impacto do lactato são mais escassas ainda, limitando-se a dois estudos (32,37).

Hajjar et al (37) comprovaram que um nível de lactato acima de 3 mmol/L nas 6 horas após a cirurgia cardíaca (valvar, CRM ou combinadas) está associado com um risco 3,3 vezes mais elevado de apresentar complicações maiores no pós-operatório (PO), inclusive de morte.

Demers et al, em uma análise retrospectiva de 1.259 pacientes adultos submetidos à cirurgia cardíaca, evidenciaram que aqueles que apresentaram níveis de lactato maiores do que 4,0 mmol/L apresentaram uma mortalidade mais elevada (11,0% x 1,4%, $p < 0,001$) e um risco maior de desenvolverem infarto do miocárdio e complicações pós-operatórias, prolongando a sua internação na UTI e no hospital (32). Os achados foram corroborados por Lopez-Delgado et al que estudaram 2.935 pacientes submetidos à cirurgia cardíaca, com idade média de 64,5 anos, com coletas de lactato na chegada à UTI, 6, 12 e 24 horas após a cirurgia, para os quais a análise multivariada evidenciou que a hiperlactatemia (>3,0 mmol/L), em qualquer momento, mostrou ser um preditor independente de mortalidade hospitalar e em longo prazo (38).

Portanto, a correção precoce dos níveis de lactato poderia reduzir os riscos de complicações no pós-operatório e, até mesmo de mortalidade em cirurgia cardíaca (32,37) e, a identificação mais precoce destes pacientes e destas alterações, pela determinação dos níveis circulantes dos miRNAs relacionados, tornaria mais precoce esta abordagem terapêutica, prevenindo complicações e melhorando os resultados no pós-operatório.

Entretanto, ainda não existem evidências da existência de algum tipo de miRNA circulante que possa prever algum grau de susceptibilidade das células cardíacas à hipoperfusão e à conseqüente elevação dos níveis séricos de lactato. A busca desses biomarcadores séricos mais precoces e sensíveis do que o próprio lactato, poderia auxiliar no processo de identificação de um marcador mais específico para a hipóxia e injúria miocárdica, afetando o desfecho pós-operatório.

A identificação de marcadores perioperatórios de injúria miocárdica, como a creatinaquinase-fração MB (CK-MB) e a troponina e a sua relação com os níveis séricos dos miRNAs circulantes, pode estabelecer uma estratégia de detecção mais precoce da injúria miocárdica e de implementação de medidas capazes de minimizar o dano miocárdico e otimizar os resultados nas cirurgias cardíacas (39).

2.4 MARCADORES BIOQUÍMICOS DE LESÃO MIOCÁRDICA

Os processos relacionados com o crescimento e metabolismo das células requerem um aporte de energia, o qual é ofertado por uma série de vias metabólicas reguladas por reações catalisadas por enzimas. A creatinaquinase (CK) é uma enzima que catalisa a conversão da creatina em fosfocreatina (PCr) e difosfato de adenosina (ADP), empregando o trifosfato de adenosina (ATP). Essa reação é reversível e, dessa maneira, o ATP também pode ser gerado a partir da PCr e do ADP (40).

Nas células, existem quatro subunidades isomórficas das enzimas CK: duas formas citossólicas, CK-B (do tipo cerebral) e CK-M (do tipo muscular) e duas isoformas mitocondriais (CK-Mi ou MT 1 e 2) (40). Existem, portanto, três tipos de isoenzimas diméricas citossólicas: CK-MM, CK-BB e CK-MB. No músculo cardíaco os níveis de CK total são compostos por cerca de 85% de CK-MM e 15% de CK-MB (41). A atividade da CK-MB se eleva em 4 a 6 horas após o início dos sintomas, tendo um pico em torno de 18 horas e tende a se normalizar entre 48 e 72 horas.

O emprego de análises imunológicas que detectam a concentração proteica da CK-MB (CK-MB massa) melhorou a sensibilidade clínica e a especificidade analítica, além de agilizar a realização da dosagem da CK-MB. A CK-MB massa se eleva entre 3 e 6 horas após o início dos sintomas, permitindo que o diagnóstico do IAM possa ser estabelecido mais precocemente do que com a atividade da CK-MB. Seu pico ocorre entre 16 e 24 horas e tende a se normalizar entre 48 e 72 horas (41).

A unidade fundamental contrátil do coração é denominada de sarcômero, sendo formado por filamentos finos e espessos. Os filamentos espessos são

formados por miosina, ao passo que os finos se compõem de monômeros de actina, troponina e tropomiosina. A contração miofibrilar é ativada pela despolarização e modulada pela presença do Ca^{+2} em sítios regulatórios específicos.

Greaser e Gergely introduziram, em 1973, a nomenclatura atualmente utilizada para as subunidades de troponina, baseada nas propriedades funcionais apresentadas por cada uma das suas frações. A fração 2, com cerca de 24 kDa, na ausência de Ca^{+2} , inibe a atividade da actiomiosina ATPase (dependente de Mg^{+2}), por isso é denominada de inibitória (TnI). Ela modula as interações actina-miosina dependendo da presença do Ca^{+2} intracelular. Já a fração 3, encontra-se ligada à tropomiosina (TnT) e serve como uma ligação mecânica entre a tropomiosina e o complexo da troponina. E a fração 4, uma subunidade ligada ao Ca^{+2} , foi nomeada de TnC e regula a ativação dos filamentos finos (42).

As troponinas se elevam entre 4 e 8 horas após o início dos sintomas, atingem seu pico entre 36 e 72 horas e tendem a se normalizar entre 5 e 14 dias, sendo indicativos específicos de lesão miocárdica e essenciais em situações nas quais a especificidade da CK-MB está reduzida. A sensibilidade e a especificidade clínica para o diagnóstico do IAM é de cerca de 90 e 97%, respectivamente, sendo significativamente mais sensíveis que a CK-MB massa (43).

Em pacientes que são submetidos à CRM, a elevação de biomarcadores cardíacos indica injúria e até mesmo necrose miocárdica, sendo que a magnitude do aumento da concentração do biomarcador provavelmente esteja relacionada com um desfecho desfavorável. Já foi demonstrado que elevações da CK-MB de 5, 10 e 20 vezes acima do seu limite superior de referência, pós-CRM, associa-se com um pior prognóstico. O mesmo grau de comprometimento do desfecho já foi evidenciado quando os valores de troponina cardíaca se elevam para o quartil ou quintil das medidas de referência (44).

Analisando sete estudos que envolveram um total de 18.908 pacientes submetidos à CRM, Domanski et al identificaram a CK-MB como o principal preditor independente de mortalidade em 30 dias e com 1 ano de PO (45).

Moon et al comprovaram que os níveis elevados de troponina I que persistem após 24 horas de uma CRM, estão associados com um aumento de 2,9 vezes na mortalidade PO (46), sendo corroborados por outros estudos (45,47). Também a

mensuração da troponina I previamente à cirurgia cardíaca é um preditor de parada cardíaca (risco 5,8 vezes maior) e de mortalidade PO (48).

Segundo a V Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre tratamento do IAM com supradesnível do segmento ST (IAMCSST), as troponinas são os marcadores bioquímicos de escolha para a avaliação dos pacientes com suspeita de IAMCSST (Classe I de recomendação, Nível de evidência A), devendo ser avaliadas na admissão do paciente e cerca de 6 a 9 horas após. A dosagem da CK-MB massa também pode ser utilizada para auxiliar no diagnóstico, principalmente se as troponinas não estiverem disponíveis (Classe IIa, Nível B) (49). Já as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre angina instável e IAM sem supradesnível do segmento ST (IAMSSST), as denominadas síndromes isquêmicas miocárdicas instáveis, recomenda a dosagem dos marcadores bioquímicos de necrose miocárdica em todos os pacientes com suspeita na admissão e que sejam repetidos pelo menos uma vez, 6 a 9 horas após (preferencialmente 9 a 12 horas após o início dos sintomas), caso a primeira dosagem seja normal ou discretamente elevada (Classe I, Nível B). A CK-MB massa e as troponinas são os marcadores bioquímicos de escolha (Classe I, Nível A) (50).

2.5 RELAÇÃO DOS MARCADORES BIOQUÍMICOS DE LESÃO MIOCÁRDICA COM OS MIRNAS

Yao et al estudando 120 pacientes submetidos à CRM com CEC identificaram uma correlação dos níveis circulantes de troponina I com os níveis séricos de miRNA-133a e miRNA-499. Os achados desse estudo apontaram o miRNA-499 como um potencial biomarcador para a predição de IAM nas primeiras horas de PO, sugerindo que a liberação dos miRNAs para a corrente sanguínea depende da ruptura dos miócitos (21).

Em pacientes submetidos à cirurgia de valva mitral com CEC, Zhou et al evidenciaram uma correlação positiva entre os níveis séricos de troponina I com o miRNA-1, assim como com os níveis de miRNA-1 na urina, sugerindo que as cirurgias cardíacas com CEC são acompanhadas por algum grau de injúria ao tecido cardíaco. Esses resultados sugerem que os níveis séricos e na urina de miRNA-1

podem ser novos biomarcadores de injúria miocárdica em cirurgias cardíacas sob CEC (31).

Em um estudo mais recente, sobre a expressão dos miRNAs-1, 21, 208a e 499 em 15 pacientes submetidos a cirurgias valvares, Yang et al comprovaram que ocorre uma injúria de isquemia e de reperfusão ao tecido miocárdico e que os níveis plasmáticos de determinados miRNAs detectados nessas lesões estão relacionados com outros marcadores bioquímicos, como a CK-MB e a troponina I. Apesar de ser um estudo com um tamanho de amostra pequeno, ele reflete o potencial desses biomarcadores como úteis na identificação dessas situações de lesão ao tecido miocárdico durante a cirurgia cardíaca (51).

A comprovação de que os miRNAs podem ser excelentes biomarcadores e auxiliarem no diagnóstico mais precoce, com maior sensibilidade e especificidade que os biomarcadores convencionais foi demonstrada pelo estudo norueguês HUNT, no qual em um seguimento de 112 pacientes ao longo de 10 anos, evidenciou que a incorporação de 5 miRNAs ao escore de risco de Framingham, aumentou a *area under the curve* (AUC) de 0,72 para 0,91 para a detecção de IAM ou de morte por patologia coronariana (52).

Tabela 1. Valores de referência dos biomarcadores séricos de injúria miocárdica e perfusão tecidual.

Marcador	Valores Séricos Referenciais de um indivíduo saudável	
CK-MB	< 16 U/L	
Troponina-I	Homens: <34,2 pg/mL	Mulheres: <15,6 pg/mL
Lactato	0,7 – 2,1 mmol/L	

3 HIPÓTESE CONCEITUAL

A elevação de níveis de expressão relativa dos miRNAs correlaciona-se com a elevação dos níveis séricos de troponina I, CK-MB e lactato e com a presença de IAM e de desfechos desfavoráveis no PO de cirurgia cardíaca.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Verificar se há relação entre os níveis de expressão dos miRNAs 1, 133a e 499 com os níveis séricos de troponina I, CK-MB e lactato no sangue periférico de pacientes submetidos a cirurgias cardíacas sob CEC e se há relação com os desfechos perioperatórios.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Descrever os níveis de expressão dos miRNAs 1, 133a e 499 no sangue periférico de pacientes portadores de cardiopatia isquêmica e valvar no período perioperatório;

Descrever os níveis séricos de troponina I, CK-MB e lactato nos pacientes portadores de cardiopatia isquêmica e valvar no período perioperatório;

Verificar se há relação entre os níveis séricos de troponina I, CK-MB e lactato com os desfechos perioperatórios nas cirurgias cardíacas sob CEC.

5 JUSTIFICATIVA / RACIONALIZAÇÃO DO ESTUDO

Os níveis séricos de troponina I e CK-MB tornam-se alterados e são mensuráveis apenas algumas horas (4 a 6h), após os primeiros sinais de possíveis eventos de injúria e de necrose miocárdica.

Portanto, há necessidade de biomarcadores séricos com capacidade de detecção mais precoce com igual ou maior sensibilidade e especificidade para a identificação desses eventos adversos, tornando mais precoce a possibilidade de intervenção e de reversão, melhorando os desfechos pós-operatórios das cirurgias cardíacas sob CEC.

Os níveis circulantes de miRNAs ainda são pouco evidenciados como influentes no PO de cirurgia cardíaca, entretanto, a precocidade de sua alteração, aliada à sua biodisponibilidade, tornam importante a determinação dessa possível relação com os níveis circulantes de troponina I, CK-MB e lactato.

6 MATERIAL E MÉTODOS

6.1 DELINEAMENTO

Estudo prospectivo de coorte.

6.2 ASPECTOS ÉTICOS

Esta pesquisa seguiu os princípios éticos estabelecidos de acordo com a Resolução nº 466 do Conselho Nacional de Saúde, de 12 de dezembro de 2012. O projeto foi submetido à Comissão Científica da Escola de Medicina e ao Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS (CAAE: 50459915.4.0000.5336) e aprovado (Parecer nº. 1.312.544).

Os participantes do estudo foram esclarecidos dos objetivos e dos riscos do mesmo, e incluídos no estudo após assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

6.3 POPULAÇÃO EM ESTUDO

Os participantes incluídos na pesquisa foram 115 pacientes consecutivos portadores de cardiopatia isquêmica e valvar aórtica e mitral com indicação cirúrgica pelos critérios das diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2,6), Sociedade Europeia de Cardiologia (3,9) e da Sociedade Americana de Cardiologia (7,8), submetidos a estes procedimentos no Serviço de Cirurgia Cardiovascular do Hospital São Lucas da PUCRS, no período entre dezembro de 2015 e novembro de 2016.

6.3.1 Critérios de Inclusão

Pacientes acima de 18 anos portadores de cardiopatia isquêmica ou valvar com indicação cirúrgica pelos critérios das diretrizes mencionadas.

Concordância em participar do estudo.

Assinatura do Termo de Consentimento Informado.

6.3.2 Critérios de Exclusão

Pacientes que tenham sido submetidos à cirurgia de aneurismectomia de ventrículo esquerdo ou à correção de cardiopatia congênita.

Não concordância em participar do estudo.

6.4 COLETAS DAS AMOSTRAS

Foram coletados 4 mL de sangue periférico em tubo vacutainer sem anticoagulante, na indução anestésica, aos 30 minutos após a instituição da CEC, no reaquecimento do paciente (em torno de 34°C), e com 1 h, 3 h, 6 h, 12 h, 24 h e 48 horas após o desclampamento aórtico, para determinação dos níveis séricos de troponina I, CK-MB e lactato, conforme apresentado na Figura 5.

Para determinação dos níveis de expressão dos miRNAs 1, 133a e 499 foi realizada a coleta de 4 mL de sangue periférico em tubo vacutainer contendo EDTA nos mesmos intervalos das coletas dos exames laboratoriais. No total, foram realizadas 2.070 coletas no período do estudo.

Projeto de Pesquisa					
Avaliação da Expressão dos miRNAs e Níveis de CK-MB, Troponina I e Lactato como Marcadores de Eventos Perioperatórios em Cirurgia Cardíaca					
Paciente:					
Cirurgia:					
Data:					
Início CEC: ____:____		Término CEC: ____:____		Total: ____ min	
Clamp. Aorta: ____:____		Término Clamp.: ____:____		Total: ____ min	
Tempo	Data	Hora	CK-MB	Trop-I	Lactato
Indução anestésica					
30 min CEC					
Reaquecimento (34°C)					
1h Pós-Desclameamento					
3h PD					
6h PD					
12h PD					
24h PD					
48h PD					

Figura 5. Ficha de registro das coletas das amostras de sangue periférico.

6.5 QUANTIFICAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DOS miRNAs

Os miRNAs foram extraídos utilizando o kit ReliaPre miRNA Cell and Tissue Miniprep System (Promega). As amostras foram expostas a um tampão de lise, aquecidas a 70°C por 3 minutos e centrifugadas a 12.000 g por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi coletado e 200 µL de álcool 95% foram adicionados. O conteúdo foi transferido para uma coluna de sílica e centrifugado a 12.000 g por 1 minuto. Foi adicionado 600 µL de tampão e novamente centrifugado a 12.000 g por 1 minuto. A enzima DNase diluída em tampão e cloreto de magnésio (MgCl₂) foi acrescentada à mistura e incubada por 15 minutos à temperatura ambiente, seguido da adição de tampão de bloqueio da enzima. As colunas foram novamente centrifugadas a 12.000

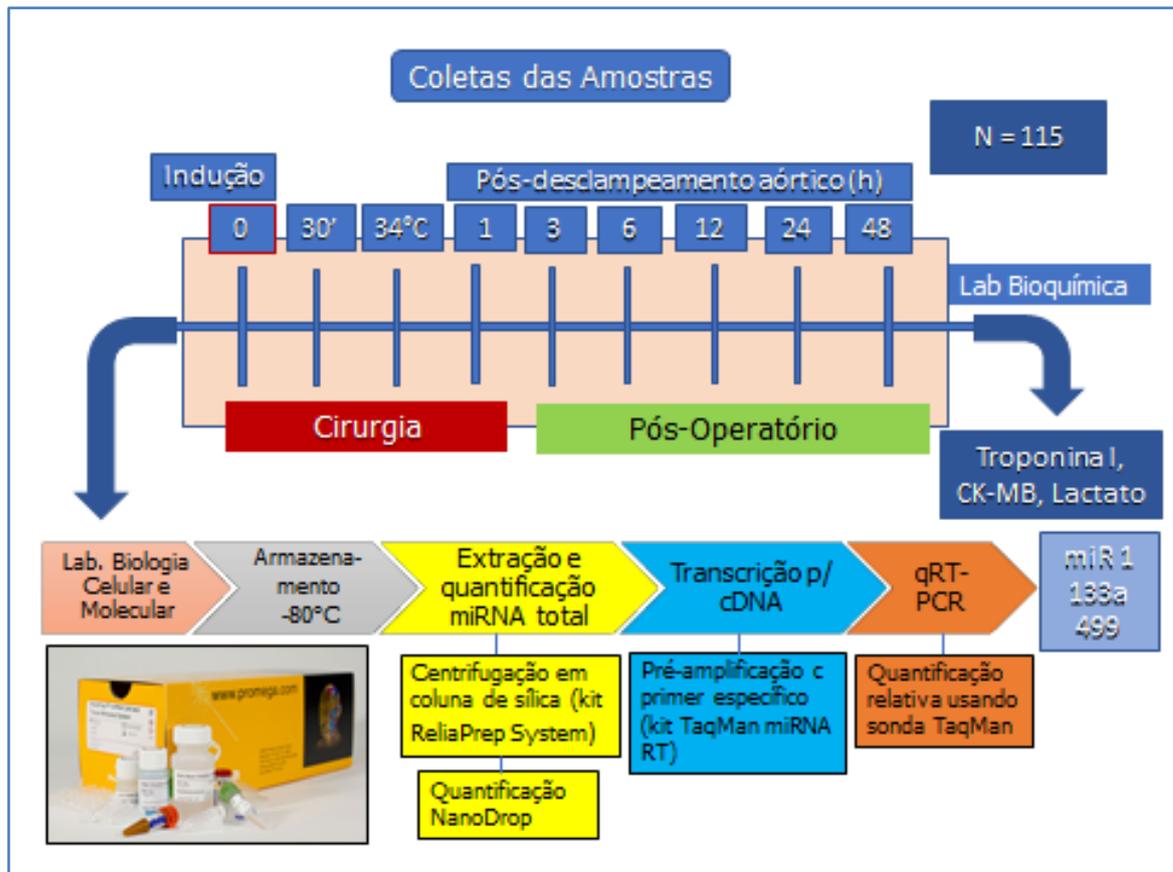
g por 1 minuto, lavadas com tampão e o miRNA retido na sílica foi eluído com 40 µL de água livre de RNase através de centrifugação a 12.000 g por 2 minutos. O miRNA extraído foi quantificado utilizando o equipamento NanoDrop (Life Technologies).

A síntese de cDNA foi realizada utilizando kit TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit (Life Technologies) conforme orientação do fabricante. Para cada miRNA analisado, foi realizada síntese de cDNA utilizando o oligonucleotídeo específico do miRNA de interesse de forma individual como estratégia de pré-amplificação. A referência de quantidade de amostra inicial utilizada para amplificação (qRT-PCR) foi baseada na quantificação do miRNA total extraído, sendo posteriormente, utilizado 800 ng de miRNA total para cada amostra.

Para análise da expressão dos miRNAs, foi realizada técnica da reação em cadeia de polimerase (PCR – do inglês *Polymerase Chain Reaction*) em tempo real no termociclador SpetOne Plus (Life Technologies). Os ensaios foram realizados em placas individuais para cada miRNA utilizando o U6 como controle endógeno de expressão.

Sondas TaqMan específicas para os miRNA1, miRNA133a e miRNA499, foram empregadas na reação de PCR com a mistura de reação do kit GoTaq Probe qPCR Master Mix (Promega) conforme orientações do fabricante. As condições do termociclador foram 50°C por 2 minutos, 95°C por 10 minutos, seguidos de 45 ciclos a 95°C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto.

Os dados relativos à expressão dos níveis de miRNA foram gerados utilizando a fórmula $2^{-\Delta\Delta Ct}$ com posteriores análises utilizando teste *t* de Student com software SPSS versão 21.0.



Lab.-laboratório, cDNA-ácido desoxirribonucleico complementar, qRT-PCR-reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real

Figura 6. Fluxograma de coleta das amostras e destino para os laboratórios de bioquímica e de biologia celular e molecular.

6.6 VARIÁVEIS DO ESTUDO

Pré-operatórias: Idade – calculada a idade média; sexo (masculino e feminino); fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FE) – avaliada por ecocardiografia ou radiocardiografia, sendo os valores divididos para análise em $\leq 40\%$ e $> 40\%$; doença renal crônica (DRC) – diagnosticada pelo nível sérico de creatinina $> 1,5$ mg/dL, seguindo referência da literatura (53,54); Diabetes mellitus (DM); infarto agudo do miocárdio (IAM) prévio à CRM e infarto agudo do miocárdio recente à CRM (até 30 dias antes da cirurgia).

Transoperatórias: tempo de circulação extracorpórea (CEC), sendo os valores divididos para análise em < 90 min e ≥ 90 min; tempo de clampeamento (pinçamento) da aorta, dicotomizado em < 40 min e ≥ 40 min; necessidade de uso do

balão intra-aórtico (BIA) no PO de CRM e IAM perioperatório. Níveis séricos de troponina I, de CK-MB, de lactato e dos miRNAs-1, 133a e 499, nos diferentes momentos de coleta de sangue.

Pós-operatórias: IAM, acidente vascular cerebral (AVC), insuficiência renal aguda, mediastinite, tempo de permanência hospitalar e óbito hospitalar.

6.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

6.7.1 Cálculo amostral

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado utilizando o programa MedCalc versão 18. Considerando um nível de significância de 5% com um poder estatístico de 80% para detectar diferenças dos biomarcadores (troponina I, CK-MB, lactato e miRNAs) entre os grupos e com um coeficiente de correlação mínimo de 0,5 entre as variáveis, obteve-se um total mínimo de 19 pacientes.

6.7.2 Análise dos dados

Os dados foram armazenados em banco de dado Excel e analisados com o pacote estatístico SPSS 21.0. A normalidade da distribuição dos dados contínuos foi verificada por meio do teste Kolmogorov-Smirnov. As variáveis contínuas com distribuição normal foram descritas por meio de média e desvio-padrão e as variáveis sem distribuição paramétrica foram descritas com mediana e intervalo interquartil. Variáveis categóricas foram apresentadas através de frequência absoluta e relativa. A comparação entre variáveis quantitativas foi realizada com os testes *t* de Student e Mann-Whitney e a associação entre variáveis categóricas, através do teste Qui-quadrado de Pearson e Exato de Fischer. Para as correlações, utilizou-se o teste de correlação de Spearman. Para a comparação entre os grupos e diversos momentos de avaliação dos marcadores foi utilizado o modelo de Equações Generalizadas e teste Post Hoc de Bonferroni. Foram consideradas significativas as comparações com $P < 0,05$.

A fim de verificar se houve relação entre as expressões dos miRNAs e os níveis séricos dos marcadores bioquímicos (CK-MB, troponina I e lactato), foi usado o coeficiente de correlação de Pearson. $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo para todas as análises.

7 RESULTADOS

Foram incluídos no presente estudo 115 pacientes, sendo 85 portadores de cardiopatia isquêmica e 30 portadores de valvopatia cardíaca (aórtica: n=22 ou mitral: n=8) operados no período de dezembro de 2015 a novembro de 2016 no Serviço de Cirurgia Cardiovascular do Hospital São Lucas da PUCRS. A idade média foi de $62 \pm 10,7$ anos, variando de 19 a 84 anos. O sexo masculino foi predominante com 76 pacientes (66,1%). As características demográficas dos pacientes estão exibidas na Tabela 2.

Tabela 2. Características pré-operatórias dos grupos conforme tipo de cirurgia.

Variável	Amostra total N=115	Tipo de cirurgia		P
		CRM (N=85)	Valvar (N=30)	
Idade (anos)	62,0±10,7	62,8±9,9	59,7±12,7	0,178
Sexo				
Masculino	76 (66,1)	59 (69,4)	17 (56,7)	0,205
Feminino	39 (33,9)	26 (30,6)	13 (43,3)	
Classe Funcional				
I	68 (59,1)	63 (74,1)	5 (16,6)	<0,001
II	23 (20)	11 (12,9)	12 (40)	0,004
III	19 (16,5)	8 (9,4)	11 (36,6)	<0,001
IV	5 (4,3)	3 (3,5)	2 (6,6)	0,612
Angina instável	30	29	1	0,001
Hipertensão arterial sistêmica	89	71	18	0,008
Fração de ejeção (%)	54,72±12,39	53,44±12,30	58,13±12,16	0,076
Insuficiência renal crônica	29 (26,4)	23 (28,8)	6 (20,0)	0,354
Diabete Mellitus	47 (42,7)	38 (47,5)	9 (30,0)	0,098
Fibrilação atrial	5 (4,5)	2 (2,5)	3 (10,0)	0,124
IAM prévio	47 (42,7)	47 (58,8)	0 (0,0)	<0,001
IAM recente	41 (37,3)	41 (51,3)	0 (0,0)	<0,001

CRM-cirurgia de revascularização do miocárdio, IAM-infarto agudo do miocárdio.

Pacientes submetidos à CRM apresentaram, mais frequentemente, angina instável ($P=0,001$), Classe funcional I ($P<0,001$) do que os pacientes portadores de valvopatias, nos quais a predominância foi da Classe funcional II ($P=0,004$) e da Classe funcional III ($P<0,001$).

Pacientes que realizaram cirurgia de CRM tinham, mais frequentemente, HAS ($P=0,008$), IAM prévio ($P<0,001$), e IAM recente ($P<0,001$), quando comparados aos que realizaram troca valvar.

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados correspondentes às variáveis trans e pós-operatórias nos 02 grupos de cirurgias. O tempo de CEC ($P=0,014$) e o tempo de clampeamento aórtico ($P<0,001$) foram mais elevados em pacientes que realizaram cirurgia valvar. O tempo de permanência hospitalar, tanto pré-operatório ($P=0,003$), como pós ($P=0,001$), também foi superior nos pacientes que realizaram troca valvar.

Tabela 3. Dados trans e pós-operatórios dos grupos conforme tipo de cirurgia.

Variável	Amostra total (N=115)	Tipo de Cirurgia		P
		CRM (N=85)	Valvar (N=30)	
Transoperatórias				
Tempo de circulação extracorpórea (min)	85,15±24,41	81,89±24,30	94,37±22,68	0,014^a
Tempo de pinçamento (min)	57,23±20,77	51,54±18,77	73,37±17,64	<0,001^a
Balão intra-aórtico	10 (9,1)	10 (12,5)	0 (0,0)	0,059 ^c
Infarto agudo do miocárdio	7 (6,4)	6 (7,5)	1 (3,3)	0,671 ^c
Pós-operatórias				
Acidente vascular cerebral	8 (7,3)	5 (6,3)	3 (10,0)	0,681 ^c
Bloqueio atrioventricular total	13 (11,8)	7 (8,8)	6 (20,0)	0,181 ^c
Insuficiência renal aguda	20 (18,2)	15 (18,8)	5 (16,7)	0,801 ^b
Infecção respiratória	18 (16,4)	14 (17,5)	4 (13,3)	0,775 ^c
Mediastinite	8 (7,3)	5 (6,3)	3 (10,0)	0,681 ^c
Reintervenção	2 (1,8)	1 (1,3)	1 (3,3)	0,473 ^c
Tempo de permanência hospitalar				
Pré-operatório	12,0 (7,0-20,3)	12,0 (6,3-20,0)	13,0 (7,0-21,5)	0,660 ^d
Pós-operatório	10,0 (7,0-17,5)	9,0 (7,0-15,8)	13,0 (9,5-24,0)	0,003^d
Unidade de tratamento intensivo	3,0 (2,0-6,0)	3,0 (2,0-5,0)	6,0 (3,0-7,3)	0,001^d
Óbito	10 (9,1)	7 (8,8)	3 (10,0)	1,000 ^c

a: Teste *t* de Student; b: Teste Qui-quadrado; c: Teste Exato de Fischer; d: Teste Mann-Whitney. Os dados estão apresentados em média e desvio padrão (média±DP), mediana e intervalo interquartil (II), frequência absoluta (N) e relativa (%).

7.1. NÍVEIS SÉRICOS DOS BIOMARCADORES CK-MB, TROPONINA I E LACTATO NO SANGUE PERIFÉRICO DOS PACIENTES SUBMETIDOS À CIRURGIA CARDÍACA COM CEC

Os biomarcadores troponina I, CK-MB e lactato foram avaliados nos 09 tempos de coleta e as médias obtidas estão descritas nas tabelas 4 a 6. No grupo de CRM, entre as medidas da CK-MB, na ordem cronológica dos tempos de coleta, houve diferença entre T2 (30 min CEC) e T3 (34°C), T3 e T4 (1 h PDA), T5 (3 h PDA) e T6 (6 h PDA), e entre T8 (24 h PDA) e T9 (48 h PDA) ($P < 0,001$). Não houve diferença entre o T1 (indução) e o T2, T4 e T5, T6 e T7 (12 h PDA), e entre T7 e T8 (Tabela 4).

Na cirurgia de troca valvar, a CK-MB, na ordem de coleta, apresentou medidas diferentes entre T2 (30 min CEC) e T3 (34°C), T3 e T4 (1 h PDA), e entre T4 e T5 (3 h PDA) ($P < 0,001$). Não houve diferença nas demais correlações entre os tempos de coleta (Tabela 4).

A troponina I, no grupo de CRM, apresentou diferença estatística, na ordem de coleta, entre T3 (34°C) e T4 (1 h PDA) e T4 e T5 (3 h PDA) ($P < 0,001$). Não houve diferença nos demais momentos, considerando a ordem cronológica de coleta. Na cirurgia valvar, na ordem cronológica de coleta, a troponina I não apresentou diferença entre os tempos (Tabela 5).

Tabela 4. Média e desvio padrão dos níveis séricos de CK-MB no perioperatório.

	CRM (n = 85)	Valvar (n = 30)
Tempo de Coleta	CK-MB (U/L)	CK-MB (U/L)
T1 – Indução	6,29 ± 0,57	8,53 ± 1,63
T2 - 30min CEC	8,15 ± 0,61	9,50 ± 1,14
T3 - 34°C	13,60 ± 1,07	18,76 ± 2,29
T4 - 1 h PDA*	34,88 ± 1,46	33,04 ± 4,97
T5 - 3 h PDA	39,88 ± 2,43	48,93 ± 7,26
T6 - 6 h PDA	36,02 ± 2,37	47,93 ± 7,96
T7 - 12 h PDA	40,12 ± 28,77	36,54 ± 6,50
T8 - 24 h PDA	28,77 ± 4,80	26,33 ± 3,95
T9 - 48 h PDA	15,69 ± 2,08	21,00 ± 5,69

*PDA: Pós-desclameamento da aorta.

Tabela 5. Média e desvio padrão dos níveis séricos de troponina I no perioperatório.

	CRM (n = 85)	Valvar (n = 30)
Tempo de Coleta	Troponina I (pg/mL)	Troponina I (pg/mL)
T1 – Indução	103,62 ± 29,54	29,13 ± 7,62
T2 - 30 min CEC	242,80 ± 107,60	136,39 ± 33,30
T3 - 34°C	189,57 ± 36,56	397,41 ± 107,74
T4 - 1 h PDA*	1724,34 ± 227,73	3707,09 ± 1200,08
T5 - 3 h PDA	3348,96 ± 300,49	4953,58 ± 863,31
T6 - 6 h PDA	4106,79 ± 588,40	5101,97 ± 813,98
T7 - 12 h PDA	5353,31 ± 843,19	5654,17 ± 1067,63
T8 - 24 h PDA	4815,78 ± 968,08	4261,92 ± 932,14
T9 - 48 h PDA	3172,91 ± 858,89	3935,69 ± 1693,63

*PDA: Pós-desclameamento da aorta.

O lactato, no grupo de CRM, mostrou diferença entre as coletas de T1 (indução) e T2 (30 min CEC), T3 (34°C) e T4 (1 h PDA), T5 (3 h PDA) e T6 (6 h PDA), e entre T7 (12 h PDA) e T8 (24 h PDA) ($P < 0,001$). Na cirurgia de troca valvar, o lactato apresentou diferenças entre os momentos de coleta de T1 e T2, e entre T3 e T4 (Tabela 6).

Tabela 6. Média e desvio padrão dos níveis séricos de lactato no perioperatório.

	CRM (n = 85)	Valvar (n = 30)
Tempo de Coleta	Lactato (mmol/L)	Lactato (mmol/L)
T1 – Indução	1,46 ± 0,08	1,33 ± 0,09
T2 - 30 min CEC	1,89 ± 0,09	1,78 ± 0,08
T3 - 34°C	1,87 ± 0,10	1,79 ± 0,10
T4 - 1 h PDA*	2,21 ± 0,12	2,31 ± 0,15
T5 - 3 h PDA	2,34 ± 0,16	2,88 ± 0,31
T6 - 6 h PDA	3,22 ± 0,27	3,47 ± 0,45
T7 - 12 h PDA	3,55 ± 0,31	3,35 ± 0,40
T8 - 24 h PDA	2,22 ± 0,17	2,56 ± 0,24
T9 - 48 h PDA	1,65 ± 0,08	1,76 ± 0,20

*PDA: Pós-desclameamento da aorta.

Resultados

A distribuição da frequência dos biomarcadores nos diferentes momentos de coleta nos pacientes submetidos à cirurgia cardíaca é ilustrada nas Figuras 7, 8 e 9.

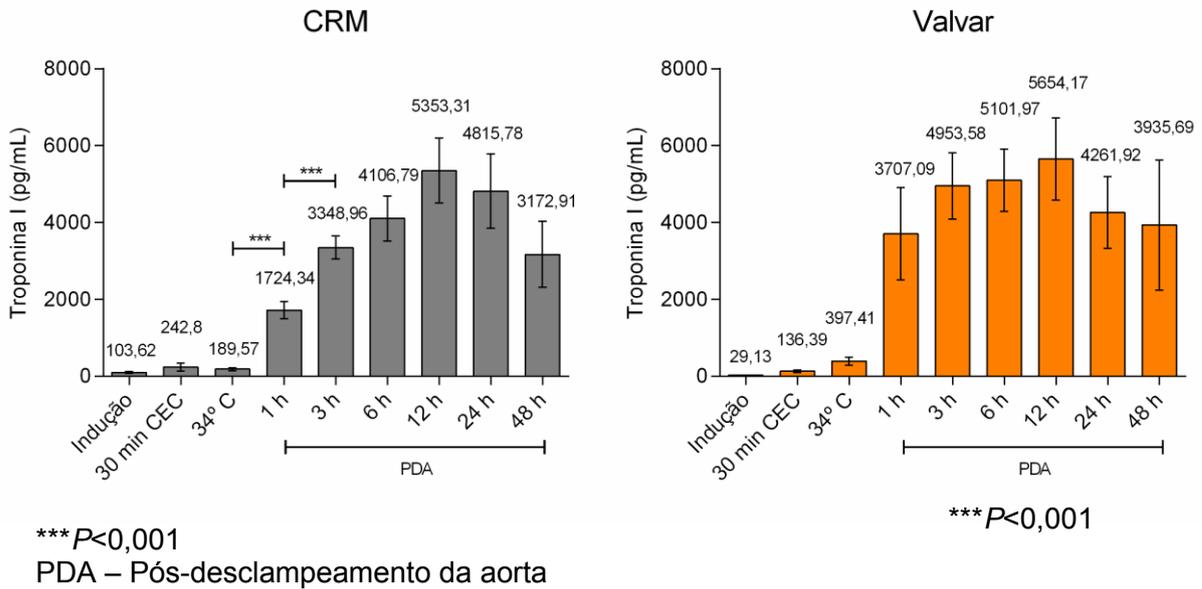


Figura 7. Concentração média dos níveis séricos de troponina I nos diferentes períodos de coleta nos dois grupos de cirurgia.

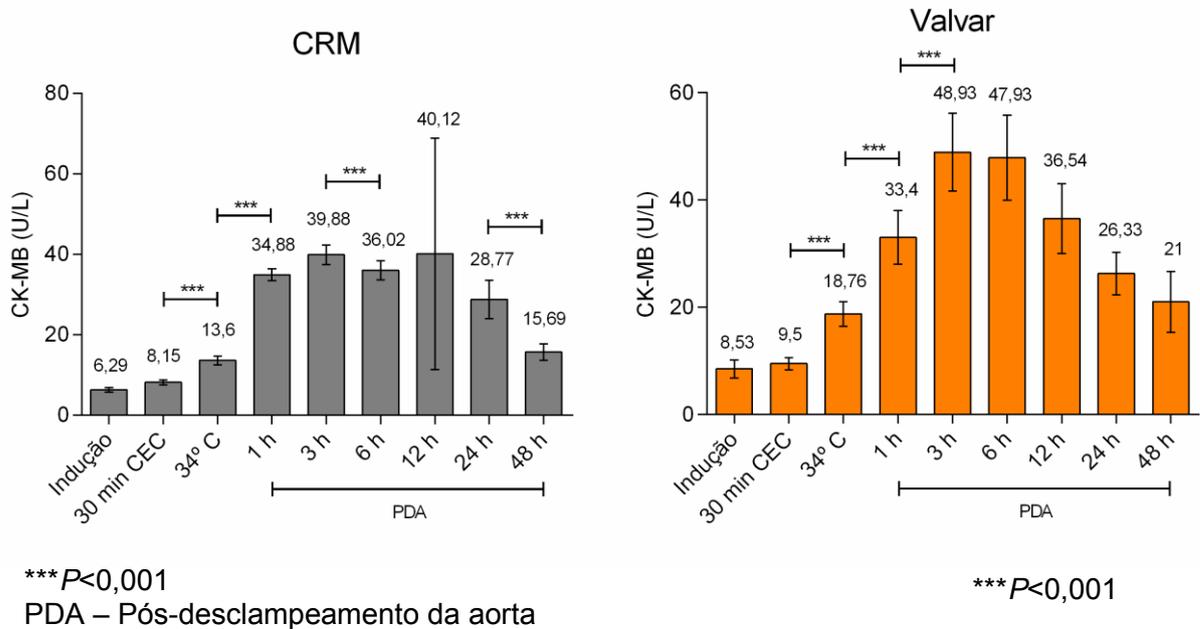
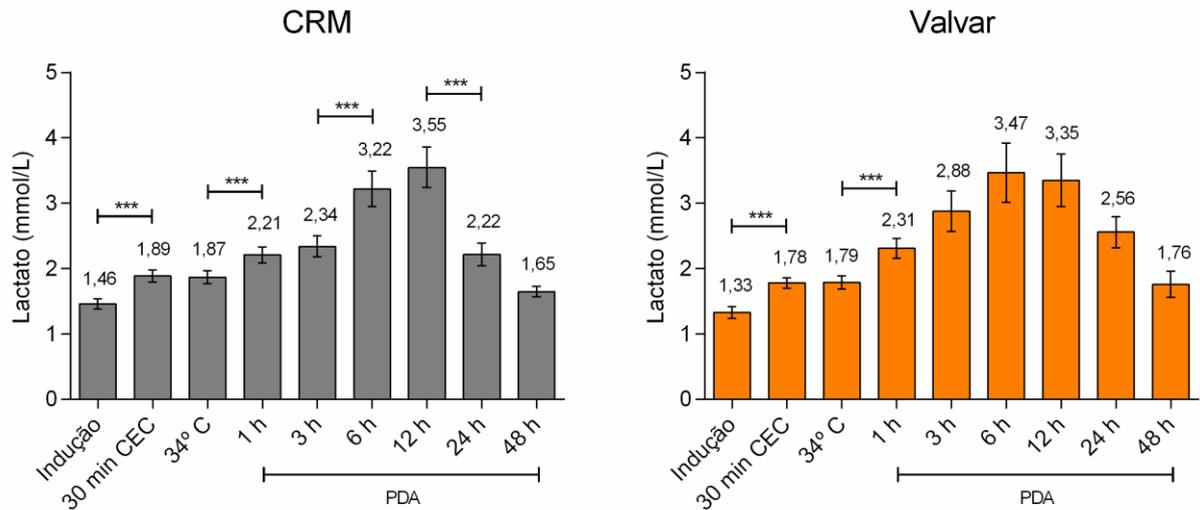


Figura 8. Concentração média dos níveis séricos de CK-MB nos diferentes períodos de coleta nos dois grupos de cirurgia.



*** $P < 0,001$

PDA – Pós-desclampamento da aorta

*** $P < 0,001$

Figura 9. Concentração média dos níveis séricos de lactato nos diferentes períodos de coleta nos dois grupos de cirurgia.

7.2 RELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DOS BIOMARCADORES CK-MB, TROPONINA I E LACTATO COM AS VARIÁVEIS PERIOPERATÓRIAS DOS PACIENTES SUBMETIDOS À CIRURGIA CARÍACA COM CEC

Os valores obtidos para as concentrações séricas dos biomarcadores foram comparados com as variáveis pré, trans e pós-operatórias. No grupo de CRM a mediana dos valores da CK-MB na indução foi maior nos pacientes sem IAM recente ($P=0,046$). O tempo de CEC apresentou tendência a uma relação com a CK-MB com 12 h PDA ($P=0,05$). Pacientes com IAM perioperatório possuíam CK-MB mais elevada nas 6 h ($P=0,032$) e às 12 h ($P=0,001$) PDA. Na indução, os valores de CK-MB foram mais elevados nos pacientes que não foram a óbito ($P=0,024$) (Tabela 7 em Apêndices). Nos pacientes submetidos à troca valvar e que apresentavam fração de ejeção $> 40\%$, os níveis séricos de CK-MB estavam mais elevados às 3 h ($P=0,012$), 6 h ($P=0,011$) e às 12 h ($P=0,019$) PDA. (Tabela 8 em Apêndices).

Com relação à troponina I, no grupo de CRM os pacientes com FEVE $\leq 40\%$ apresentaram níveis mais elevados no momento da indução. Também nesse momento, os pacientes com DM apresentaram valores de troponina I mais elevada

($P=0,040$), assim como aqueles com IAM prévio ($P<0,001$) e IAM recente ($P<0,001$). Pacientes com IRA tiveram valores da troponina I maior, tanto na indução ($P=0,041$), quanto 24 h PDA ($P=0,010$). Pacientes que apresentaram IAM perioperatório apresentaram troponina I mais elevada com 12 h ($P=0,012$) e com 24 h PDA ($P=0,017$). Os pacientes com níveis de troponina I mais elevada com 12 h ($P=0,013$) e com 24 h PDA ($P=0,006$) apresentaram um tempo de internação PO mais prolongado. E, finalmente, os valores obtidos às 24 h PDA foram superiores nos pacientes que evoluíram para óbito ($P=0,033$). Já no grupo valvar, os valores obtidos nas amostras com 24 h PDA apresentaram relação direta com o tempo de clampeamento da aorta ($P=0,011$). As demais análises não apresentaram diferença ou correlação estatisticamente significativa (Tabelas 9 e 10 em Apêndices).

Com relação ao marcador lactato, no grupo de CRM observou-se níveis séricos mais elevados nos períodos de 3 h ($P=0,009$), 6 h ($P=0,010$) e 12 h PDA ($P=0,005$) nos pacientes com a fração de ejeção $> 40\%$. Na indução, os níveis de lactato foram mais elevados nos pacientes sem IRC ($P=0,014$) e com IAM recente ($P=0,036$). Às 12 h PDA, os pacientes que foram a óbito tinham valores de lactato mais elevados ($P=0,036$). No grupo valvar, os níveis de lactato não apresentaram diferença ou relação estatisticamente significativa entre o período perioperatórios e as variáveis analisadas (Tabelas 11 e 12 em Apêndices).

7.3 PERFIL DE EXPRESSÃO RELATIVA DOS miRNAs-1, 133a e 499 NOS LEUCÓCITOS DO SANGUE PERIFÉRICO DOS PACIENTES SUBMETIDOS À CIRURGIA CARDÍACA COM CIRCULAÇÃO EXTRA-CORPÓREA

Por amostra de conveniência, dos 115 pacientes inicialmente incluídos no estudo, 24 foram selecionados para avaliação da expressão dos miRNAs U6 (controle endógeno), 1, 133a e 499. Dos 09 tempos de avaliação foram selecionados quatro períodos para a extração e quantificação dos miRNAs: indução anestésica, reaquecimento (34°C), 1 h e 6 h PDA, conforme estudo prévio (21). Desses 24 pacientes, 14 foram submetidos à CRM e 10 eram do grupo valvar (09 TVA e 01 TVM). A expressão relativa dos miRNAs obtida em um dos experimentos de PCR em tempo real está ilustrada na Figura 10.

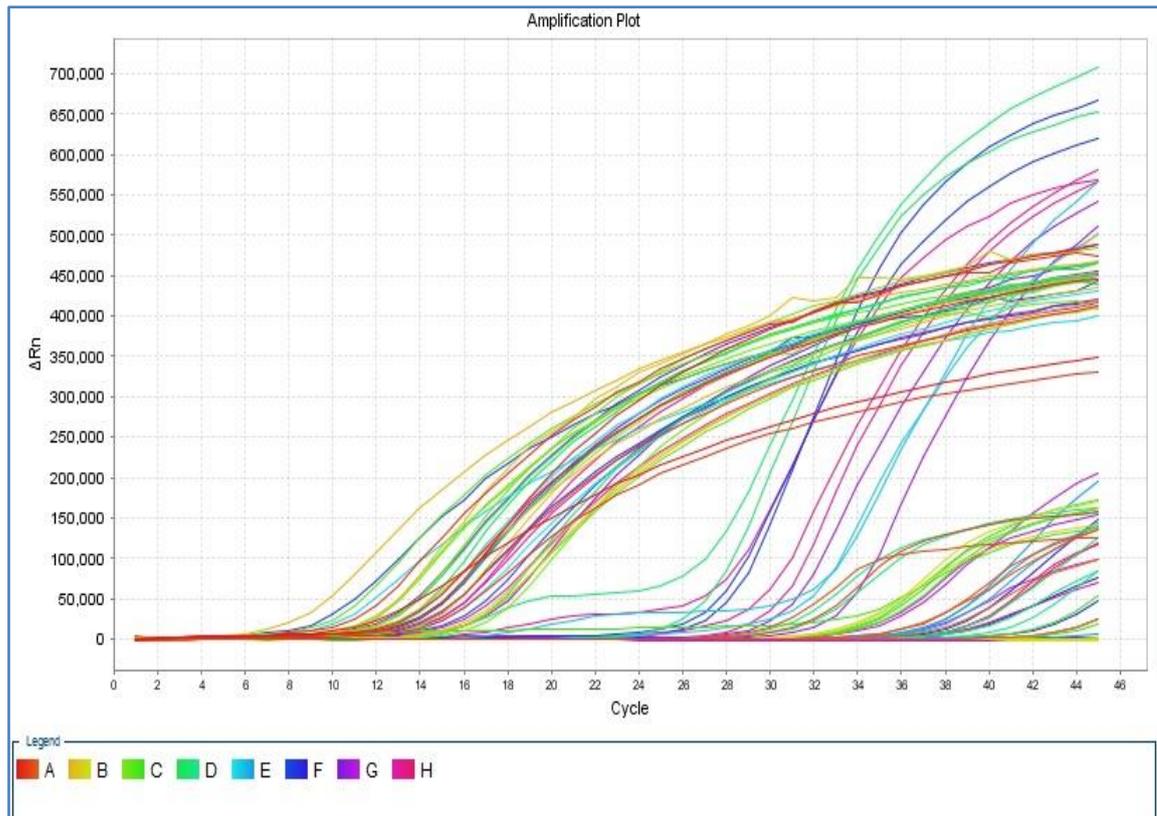


Figura 10. Expressão de positividade das quantificações dos miRNAs.

A análise das expressões dos miRNAs demonstrou que na comparação entre os diferentes momentos de coleta, houve um aumento na expressão do miRNA-1 nos três períodos analisados, quando comparados ao controle. A expressão relativa do miRNA-1 foi 20,7 vezes maior no reaquecimento (34°C), 7,74 vezes maior com 1 h PDA e 53,07 vezes maior com 6h PDA. A análise comparativa apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de reaquecimento e 1 h PDA ($P=0,002$) e entre os grupos com 1h PDA e 6h PDA ($P=0,014$).

Houve um aumento nos níveis de expressão do miRNA-133a de 5,3 vezes no reaquecimento (34°C), 7,8 vezes com 1 h PDA e 2 vezes com 6 h PDA, quando comparados aos níveis de expressão da coleta na indução.

A expressão relativa do miRNA-499 elevou-se nos três tempos analisados, sendo 8,06 vezes mais expresso no reaquecimento, 20,19 vezes com 1 h PDA e 3,71 com 6h PDA, quando comparados ao controle. A análise comparativa apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de

reaquecimento e 1 h PDA ($P=0,059$) e entre os grupos com 1 h PDA e 6 h PDA ($P=0,002$) (Figura 11).

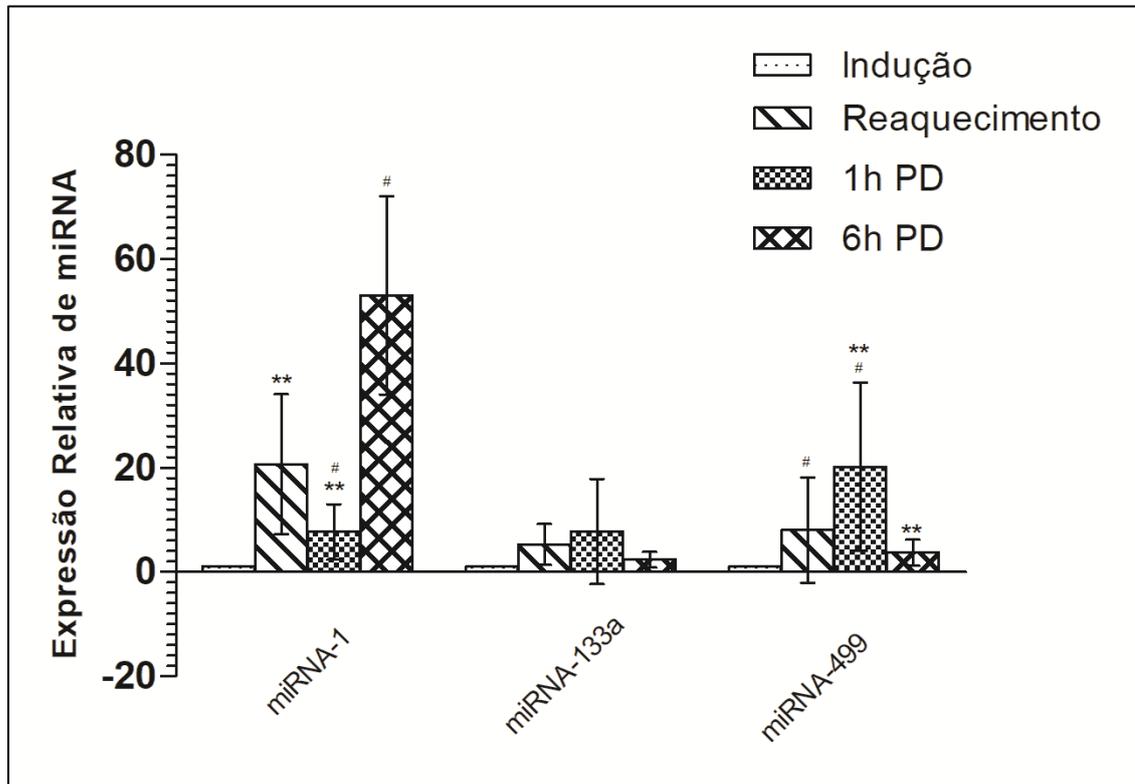


Figura 11. Expressão relativa dos miRNAs nos diferentes períodos analisados. (** $p<0,005$; # $p<0,05$). PD – Pós-desclameamento.

7.4 RELAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DOS BIOMARCADORES CK-MB, TROPONINA I E LACTATO COM A EXPRESSÃO RELATIVA DOS miRNAs

Para a avaliação de uma possível relação entre os níveis séricos de CK-MB, troponina I e lactato com a expressão relativa dos miRNAs 1, 133a e 499, foi empregado o coeficiente de correlação de Pearson. Os dados obtidos estão apresentados na Figura 12.

Foi identificada uma correlação significativa e positiva da expressão relativa do miRNA-1 com a troponina I ($r=0,4893$, $P=0,0025$) (Figura 12 – b) e com o lactato ($r=0,5689$, $P=0,0002$) (Figura 12 – c).

Não foi observada correlação entre os valores da expressão dos miRNAs 133a e 499 com os três marcadores bioquímicos (Figura 12, demais letras).

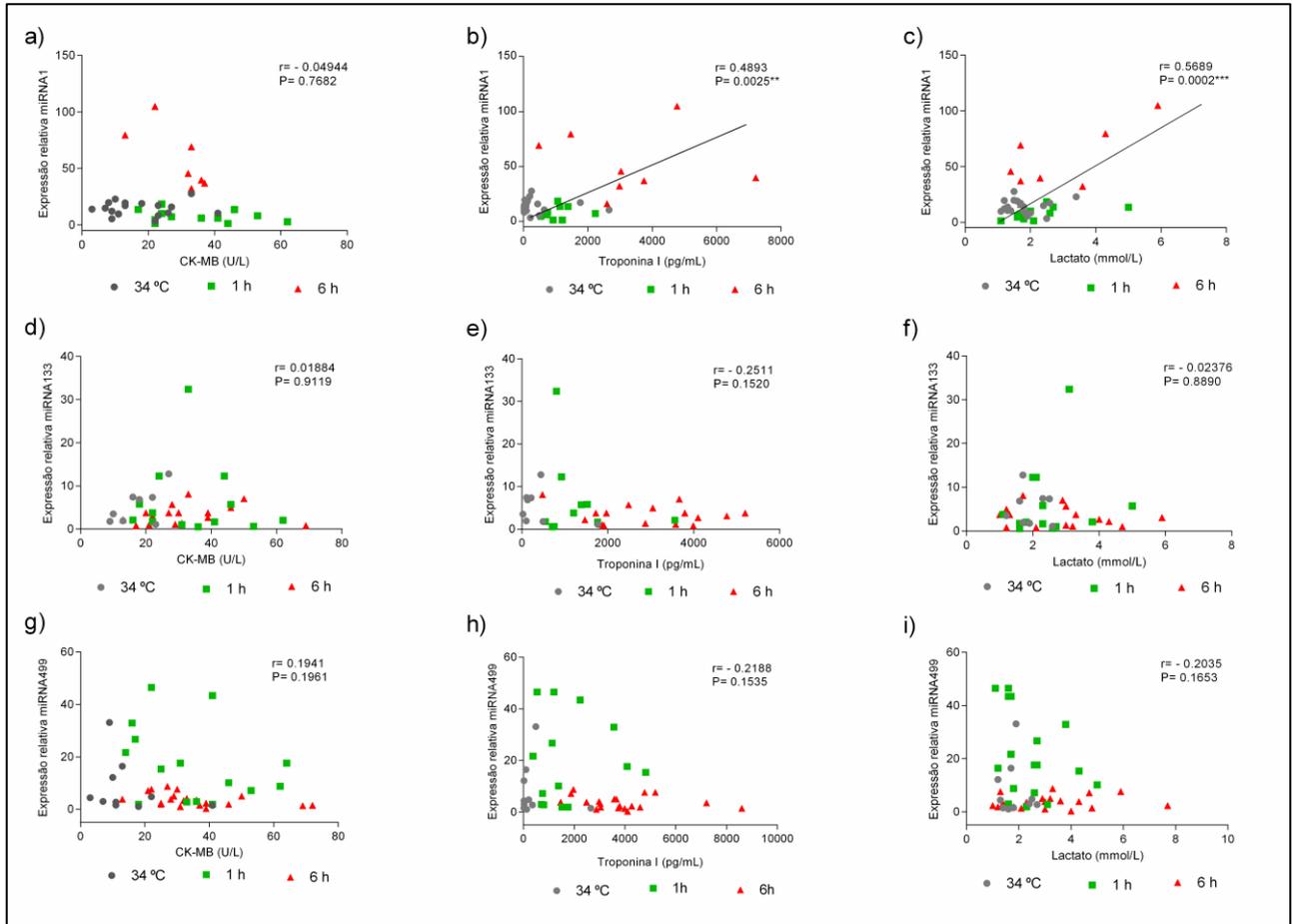


Figura 12. Gráficos de correlação entre os níveis séricos dos biomarcadores CK-MB, troponina I e lactato com os valores da expressão relativa dos miRNAS 1 (a, b, c), 133a (d, e, f) e 499 (g, h, i).

8 DISCUSSÃO

As doenças cardiovasculares são extremamente prevalentes na população mundial e responsáveis por cerca de 30% dos óbitos. O tratamento desses pacientes por intermédio da cirurgia cardíaca com CEC implica em determinado grau de lesão miocárdica, que pode ser detectada por biomarcadores séricos, como a CK-MB e a troponina I. O presente estudo, inédito na literatura brasileira em abordar os miRNAs como novos marcadores séricos de lesão miocárdica no período perioperatório das cirurgias cardíacas sob CEC, procura evidenciar a existência de biomarcadores mais precoces, sensíveis e específicos de dano ao tecido miocárdico, permitindo a intervenção mais precoce sobre os fatores relacionados com o período perioperatório, procurando otimizar os resultados pós-operatórios.

Elevações nos níveis de creatinaquinase (CK-MB) ou de troponinas pós-CRM são comuns e ocorrem mesmo na ausência de oclusão de algum enxerto. Podem estar relacionadas com a morte celular devido a insuficiente proteção miocárdica durante a CEC, devido a técnicas de CRM sem CEC, embolia aérea e isquemia regional ou global durante o procedimento. A literatura apresenta poucas evidências de que a elevação enzimática isolada esteja associada com pior prognóstico. Análise de 7 estudos que incluíram 18.908 pacientes e que calculou a relação CK-MB para cada paciente, como sendo a relação entre o pico de CK-MB e o limite superior normal para cada estudo, demonstrou que a mortalidade em 30 dias para a relação de CK-MB entre 4 e 5 foi mais do que o dobro daquela para a relação de 1 (45).

Estudo avaliando a liberação de CK-MB em 800 pacientes submetidos à CRM identificou que o pico de elevação dos níveis séricos de CK-MB ocorreu 4 horas após a liberação do clampeamento aórtico em 55% dos pacientes, após 8 horas em 19% e após 16 horas em 12%, com uma mediana de 29 ng/mL para todo o grupo (55). Mastro et al estudando a liberação da CK-MB após a realização de diferentes tipos de cirurgias cardíacas, demonstraram que o pico de elevação da CK-MB ($8,4 \pm 10,7$ horas) ocorre mais precocemente que o pico de elevação da troponina I ($11,5 \pm 8,6$ horas); $P < 0.001$ (56).

No presente estudo, a elevação de CK-MB ocorreu de maneira significativa até o período de coleta de 6 horas após o desclampamento da aorta no grupo submetido à CRM, mas o pico de elevação foi atingido com 12 horas PDA, havendo um decréscimo significativo após as 24 horas de desclampamento aórtico. Já no grupo valvar a elevação dos níveis séricos de CK-MB ocorreu de maneira significativa até a coleta de 3 h PDA, quando atingiu o seu pico, decrescendo sucessivamente até a coleta de 48 h PDA. Existem poucos relatos na literatura com esse acompanhamento seriado dos níveis de CK-MB em 09 momentos no período perioperatório de cirurgia cardíaca, sendo que Yang et al identificaram a elevação da CK-MB em 1 hora após o desclampamento aórtico e nas 24 horas de pós-operatório de 15 pacientes submetidos à cirurgia de troca valvar, tendo realizado coletas em 04 momentos distintos (51). O pico de elevação da enzima CK-MB pós-CRM está correlacionado com eventos adversos ($P=0,009$, $OR=1.56$) (57).

Resultados de revisão sistemática sobre marcadores bioquímicos da lesão miocárdica pós-CRM revelaram que a liberação de CK-MB em níveis 5 a 8 vezes maiores do que o limite superior de referência está associada com o aumento no risco de mortalidade nos 40 meses seguintes de PO (58). No *GUARDIAN trial*, os autores evidenciaram a redução da sobrevida em pacientes submetidos à CRM com CEC, quando os níveis de CK-MB excederam a 10 vezes o limite superior da normalidade (59).

Costa et al demonstraram que a elevação de CK-MB ocorre em cerca de 61,9% dos pacientes submetidos à CRM e que quanto maior essa elevação (acima de 5 vezes o valor normal), maior o risco de mortalidade (7%) e de IAM (12,3%) (57). Também houve aumento de acidente vascular encefálico e da necessidade de algum tipo de nova revascularização nesses pacientes.

No nosso estudo, o pico de elevação da CK-MB ocorreu na coleta de 12 h PDA para o grupo CRM ($40,12 \pm 28,77$ U/L) e na de 3 h PDA no grupo valvar ($48,93 \pm 7,26$ U/L), não demonstrando correlação com a ocorrência de óbito, provavelmente porque os valores dessas coletas não excederam a 5 vezes o valor de referência de normalidade dos níveis séricos de CK-MB do laboratório de bioquímica do Hospital São Lucas da PUCRS, que é de < 16 U/L.

Os fatores de risco associados com a liberação da CK-MB no PO de cirurgia cardíaca são o uso de nitratos de curta ação, cirurgia em caráter de emergência,

necessidade de agentes inotrópicos após o procedimento, tempo de CEC, duração do clampeamento da aorta, número de vasos ocluídos, a lesão de reperfusão e o tipo de cirurgia realizada (56–58).

No nosso estudo, o tempo de CEC e o tempo de clampeamento da aorta não se correlacionaram significativamente com os níveis séricos de CK-MB, o que difere de achado descrito por Costa et al (57) que apontaram o clampeamento da aorta como preditor independente de elevação da CK-MB após a CRM.

Os níveis séricos de CK-MB mostraram-se elevados nas coletas de 6 h ($P=0,032$) e 12h (0,001) PDA nos pacientes que apresentaram IAM perioperatório, refletindo a lesão miocárdica irreversível.

O tipo de cirurgia também influencia no padrão de liberação dos biomarcadores séricos, sendo que a cirurgia de troca valvar mitral apresenta valores de pico mais elevados do que outras cirurgias cardíacas com CEC (56). Quanto aos tempos de CEC e de clampeamento aórtico, vários estudos já demonstraram que as cirurgias de troca valvar, tanto aórtica, quanto mitral, tem uma duração maior quando comparadas com a CRM (56,60). No nosso estudo, os pacientes submetidos à troca valvar apresentaram tempo de CEC ($94,37 \pm 22,68$ min) mais elevado que os submetidos à CRM ($81,89 \pm 24,30$ min), $P=0,014$. O tempo de clampeamento da aorta também foi mais elevado ($73,37 \pm 17,64$ min) no grupo valvar do que no grupo de CRM ($51,54 \pm 17,77$ min), $P<0,001$.

Em comparação com a Tnl dosada no pico de 24 horas, o pico da CK-MB pós-cirurgia cardíaca tem menor associação com a mortalidade operatória e os seus níveis tendem a se normalizar cerca de 24 a 48 horas após a sua liberação, ao passo que as troponinas podem permanecer elevadas por cerca de 7 a 10 dias. Esses fatos acabam comprometendo a capacidade da CK-MB em ser um marcador de poder prognóstico no PO de CRM ou de troca valvar (47).

Devido à limitação da sensibilidade e da especificidade da CK-MB para a detecção de necrose miocárdica perioperatória, as troponinas cardíacas, conhecidas desde 1973, se tornaram preferenciais para essa detecção, sendo que a troponina cardíaca I tem sido reconhecida como um sensível e específico marcador de lesão miocárdica e a nova definição de infarto agudo do miocárdio é baseada nos níveis

séricos de troponinas, correlacionados com achados eletrocardiográficos, ecocardiográficos ou angiográficos (44,46,56).

Os fatores associados com a elevação de troponina no pós-operatório de CRM são relacionados com a morte celular e resultam de uma insuficiente proteção miocárdica durante a CEC, técnicas de CRM sem o emprego da CEC, embolia aérea e isquemia regional ou global durante o procedimento, insuficiência renal e modificação isquêmica de moléculas (46,58).

Existem vários valores de referência como ponte de corte para avaliar a liberação da troponina I, por que existem vários testes disponíveis e nenhum estudo comparando suas recomendações para diagnóstico de lesão miocárdica significativa e predição de desfechos desfavoráveis pós-CRM. Por isso, mais importante do que o ponto de corte, é o padrão de alteração da troponina no PO de CRM, pois ele independe dos valores de referência de cada instituição (46).

No nosso estudo, os pacientes dos dois grupos de cirurgias apresentaram o mesmo pico de elevação da troponina I, que ocorreu com 12 horas após o desclampamento aórtico ($5.353,31 \pm 843,19$ pg/mL no grupo de CRM e $5.654,17 \pm 1.067,63$ pg/ml no grupo valvar). Moon et al estudando 218 pacientes para avaliar a influência da persistência dos níveis elevados de troponina I pós-CRM, detectaram em 193 deles um pico de elevação da troponina em 12 horas de PO, enquanto que nos demais 25, os níveis elevados persistiram após as 24 h de PO. Mastro et al identificaram que o pico de elevação da troponina I em pacientes submetidos a cirurgias cardíacas (CRM e valvares) foi de $11,5 \pm 8,6$ horas (46,56).

Estudo de Adabag et al com 1.186 pacientes (696 submetidos à CRM e 490 à cirurgia valvar) revelou que os valores mais elevados de troponina I foram associados significativamente com a mortalidade hospitalar em ambos os grupos, sendo que a cada elevação de 50 ng/mL na troponina I, a mortalidade aumenta em 40% no grupo isquêmico e 30% no grupo valvar (47). Outros estudos também corroboram a associação dos níveis elevados de troponina I, tanto no pré-operatório, como dosada com 24 horas de PO, com aumento da mortalidade em pacientes submetidos à CRM (45,48).

A liberação de troponina I correlaciona-se positivamente com a classe funcional da NYHA, em pacientes com elevado EuroSCORE e com prolongado tempo de CEC e de clampeamento aórtico (56).

No presente estudo, algumas variáveis apresentaram relação significativa com a troponina I no momento da indução: níveis mais elevados nos pacientes com a fração de ejeção $\leq 40\%$ ($P=0,009$), com DM ($P=0,040$) e com IAM prévio ($P<0,001$) ou recente ($P<0,001$). Estudos sobre as alterações da troponina I em cirurgias cardíacas demonstraram características semelhantes dos indivíduos incluídos nas nossas análises, exceto pela incidência de DM, que no presente estudo foi mais elevada (42,7%), comparada com a literatura (20-30%) (47,56,60).

A elevação da troponina I correlacionou-se significativamente com a ocorrência de insuficiência renal aguda ($P=0,010$) e IAM perioperatório ($P=0,017$), além de prolongar a internação hospitalar ($P=0,006$) e elevar a mortalidade ($P=0,033$) nos pacientes submetidos à CRM. Adabag et al estudaram pacientes submetidos à cirurgia cardíaca, tanto CRM, quanto valvar, e comprovaram a relação da elevação da troponina I com a ocorrência de IAM e mortalidade, além de prolongar a internação na UTI e hospitalar (47). Achados semelhantes foram descritos em outros estudos (45,46,48,60). Já no nosso grupo valvar não houve essa correlação, o que pode ser explicado pelo fato de os pacientes não terem apresentado IAM prévio, nem recente, pois a doença arterial coronariana pré-existente é, por si só, um fator que determina maior probabilidade de lesão perioperatória ao tecido miocárdico (56).

Os escores para estratificação do risco dos pacientes submetidos a cirurgias cardíacas (VA Risk Score e o EuroScore) utilizam apenas variáveis clínicas pré-operatórias, entretanto, os fatores transoperatórios podem influenciar decisivamente nos desfechos pós-operatórios. A incorporação dos níveis pré-operatórios e com 24 horas de PO de troponina I melhoram o poder prognóstico dos escores e auxiliam na identificação de pacientes sob maior risco de reintervenção, de parada cardíaca e de permanência mais prolongada na UTI (47,48).

Nesse sentido é que devem ser envidados esforços no sentido de que os pacientes que serão submetidos à cirurgia cardíaca, tenham verificada a sua troponina basal, que no nosso estudo foi de $103,62 \pm 29,54$ pg/L no grupo de CRM e $29,13 \pm 7,62$ pg/L no grupo valvar.

Durante a cirurgia cardíaca, a CEC permite a perfusão tecidual e a oxigenação sistêmica no período em que o coração deixa de receber suprimento e é resfriado para permitir a realização da revascularização do miocárdio ou a troca valvar. Durante esse período, a ocorrência de hipoperfusão tecidual se associa com a acidose láctica secundária ao metabolismo anaeróbico. A mensuração dos níveis séricos de lactato é um marcador da adequada perfusão tecidual (33).

Vários estudos já comprovaram que a elevação dos níveis séricos de lactato durante a cirurgia cardíaca, seja em níveis superiores a 3 mmol/L nas 6 horas após a admissão na UTI (37), seja em níveis $\geq 4,4$ mmol/L nas primeiras 10 horas ou de > 3 mmol/L nas primeiras 12 h de PO (38) estão associados com desfechos PO desfavoráveis (choque cardiogênico, síndrome de angústia respiratória do adulto e IRA) e mortalidade. Já Demers et al, em estudo com 1.376 pacientes submetidos à cirurgia cardíaca, identificou que aqueles com nível de lactato sérico $\geq 4,0$ mmol/L durante a cirurgia, apresentaram maior mortalidade operatória (11,0% x 1,4%; $P < 0,001$; RR = 9,0) (32).

Como esses níveis de lactato são determinados por eventos que ocorrem tanto no período trans, como pós-operatório, como a duração do tempo de CEC, o grau de hipotermia, o tempo de resfriamento e reaquecimento do paciente, a estratégia de manejo do pH e o valor do hematócrito, há necessidade de monitorização adequada de seus níveis séricos para permitir uma pronta ação de reversão da hipoperfusão tecidual (32,37,38).

Observa-se que em nenhum momento do transoperatório (T2 – 30min de CEC, T3 – reaquecimento do paciente e T4 – 1h PDA) houve níveis séricos maiores que 4,0 mmol/L, o que traduz que houve uma adequada perfusão e oxigenação tecidual. Os tempos de coleta foram referenciados com o desclameamento da aorta, que é um dos momentos de maior agressão ao miocárdio pela isquemia de reperfusão e não com relação à admissão do paciente na UTI, mas os níveis séricos com 6 horas PD da aorta refletem aproximadamente um tempo de chegada na UTI de 3 horas e no grupo submetido à CRM a média foi de $3,22 \pm 0,27$ mmol/L, enquanto que no grupo valvar a média foi de $3,47 \pm 0,45$ mmol/L. Portanto, a média de nível sérico do lactato reflete que os parâmetros de adequada perfusão foram mantidos no período de UTI.

No presente estudo, pacientes do grupo submetido à CRM e que apresentaram IAM recente apresentaram níveis de lactato mais elevados na indução ($P=0,036$). Lopez-Delgado et al demonstraram que tanto os pacientes com IAM prévio, quanto aqueles com IAM recente (até 30 dias antes da CRM), apresentaram níveis de hiperlactatemia ($> 3,0$ mmol/L) no PO e o IAM recente foi caracterizado como preditor independente de elevação do lactato em cirurgia cardíaca (38).

Demers et al evidenciaram que os pacientes com a fração de ejeção do VE $< 30\%$ no pré-operatório apresentaram níveis de lactato mais elevados durante a CEC (32). Entretanto, no nosso estudo os pacientes com FEVE $> 40\%$ apresentaram níveis mais elevados nas coletas realizadas com 3h ($P=0,009$), 6h ($P=0,010$) e 12h ($P=0,005$) PDA, o que também foi evidenciado por Lopez-Delgado et al que identificaram dentre os pacientes com lactato $\geq 3,0$ mmol/L uma FE pré-operatória mais elevada do que os que não apresentaram hiperlactatemia (38). O fato de os pacientes com FEVE mais baixa receberem uma maior atenção devido ao risco de complicações maiores, inclusive com o uso do balão intra-aórtico (fator protetor segundo estudo publicado com OR=0,43 (0,252-0,735), $P=0,002$) (38), o qual melhora a perfusão coronariana, pode ter sido decisivo na prevenção da elevação dos níveis de lactato.

Os tempos de CEC e de clampeamento da aorta não apresentaram relação com a elevação dos níveis séricos de lactato, o que difere de outros estudos que demonstraram que o tempo maior de CEC eleva os níveis de lactato. Entretanto, a média do tempo de CEC desses estudos, $101,3 \pm 52,8$ min (32), 109 ± 36 min (37) e 121 ± 46 min (38) foi mais elevada que a do nosso estudo, $85,15 \pm 24,41$ min, o que pode ter contribuído para uma menor injúria de perfusão aos pacientes e consequentemente minimizar a elevação dos níveis séricos de lactato.

Merece destaque que os pacientes submetidos à CRM e que apresentaram níveis mais elevados de lactato na coleta com 12 h PDA evoluíram para óbito ($P=0,036$). Isso é corroborado por Hajjar et al que evidenciaram que os níveis elevados de lactato $> 2,0$ mmol/L com 12 h de PO foi preditor de mortalidade, assim como Lopez-Delgado et al que evidenciaram que níveis de lactato $> 3,0$ mmol/L, em qualquer momento (admissão na UTI, 6 h, 12 h e 24 h PO) foram preditores de mortalidade hospitalar e a longo prazo (37,38).

A identificação da elevação dos níveis de lactato é fundamental durante a cirurgia cardíaca, levando-se em conta o impacto sobre o aumento nas complicações e mortalidade PO. A estratégia de otimização hemodinâmica dos pacientes usando outros parâmetros, como o índice cardíaco, o cálculo do oxigênio liberado para os tecidos e a avaliação da saturação venosa central de oxigênio são recursos para se detectar uma hiperlactatemia precoce e se corrigir as eventuais alterações (32,37,38).

Entretanto, a lesão miocárdica pode compreender um espectro amplo de agressão ao tecido cardíaco, desde uma lesão transitória reversível até um infarto agudo do miocárdio irreversível. Estudos demonstraram que os picos dos marcadores bioquímicos podem se apresentar em pacientes com e sem lesão miocárdica. Além disso, podem ter limitações para distinguir a lesão causada pelo IAM propriamente dito da causada pelo procedimento em si (46,61).

Nesse intuito de fornecer biomarcadores mais sensíveis e específicos da lesão miocárdica, os miRNAs vem sendo estudados e correlacionados com os biomarcadores convencionais, objetivando fornecer informações mais precoces e confiáveis de alguma injúria tecidual e até mesmo de IAM durante as cirurgias cardíacas (21,31,39,51).

Estudos recentes correlacionaram tanto os níveis de expressão dos miRNAs 133a e 499 com os níveis circulantes de troponina I em pacientes submetidos à CRM com CEC, apontando o miRNA-499 como um potencial biomarcador para a predição de IAM nas primeiras horas de PO, assim como os níveis séricos de miRNA-1 com a troponina I, em pacientes submetidos à cirurgia de valva mitral com CEC, evidenciando uma correlação positiva e sugerindo que as cirurgias cardíacas com CEC são acompanhadas por algum grau de injúria ao tecido cardíaco.

O primeiro estudo que comprovou a relação do miRNA com a cirurgia cardíaca foi publicado em 2013 e demonstrou que há relação dos níveis séricos de miRNA-1 com a lesão miocárdica gerada pela própria cirurgia cardíaca e pela CEC. Houve elevação dos níveis circulantes do miRNA-1 com 1 h após o término da CEC e a manutenção desses níveis elevados com 24 h após a CEC (31).

No nosso estudo o miRNA-1 apresentou a maior elevação dos seus níveis circulantes com 6 h PDA (53,07 vezes em comparação ao controle). Na coleta de

reaquecimento (34°C), os níveis já haviam se elevado, evidenciando que a lesão miocárdica responsável pela liberação do miRNA-1 ocorre com maior precocidade que a demonstrada pelo estudo acima, que só a evidenciou com o término da CEC. Avaliando 15 pacientes submetidos à cirurgia valvar, Yang et al comprovaram a elevação do miRNA-1 com 45 minutos após o clampeamento da aorta e um pico de elevação com 1 h após o desclampeamento da aorta (51). Essas elevações nas expressões do miRNA-1 são atribuídas à isquemia miocárdica, enquanto a aorta está clampeada e o coração excluído de receber sangue para permitir a realização das anastomoses distais nas coronárias na CRM ou de troca valvar aórtica ou mitral, mas também devido à reperfusão desse tecido miocárdico isquêmico, quando a aorta é desclampeada (62).

Yao et al estudando 120 pacientes submetidos à CRM com CEC identificaram elevações nos níveis plasmáticos do miRNA-499 nos momentos de 1 h, 3 h e 6 h PDA, retornando ao valor do controle em 48 h PDA (21). No nosso estudo os níveis de expressão do miRNA-499 apresentaram leve elevação no reaquecimento (8,06 vezes). Entre os tempos de reaquecimento (34°C) e 1 h PDA houve uma elevação na expressão do miRNA-499 com diferença estatisticamente significativa. O pico de expressão do miRNA-499 foi obtido com o tempo de 1 h PDA (20,1 vezes em relação ao controle), o que traduz o momento de maior insulto ao tecido miocárdico, provavelmente pela reperfusão do tecido isquêmico. As coletas realizadas no momento do reaquecimento (34°C de temperatura nasofaríngea), que em alguns casos já coincidiram com o desclampeamento da aorta, já refletem algum grau de lesão ao tecido miocárdico, seja pela própria isquemia gerada pelo clampeamento da aorta, pela resposta inflamatória à CEC, pela cardioplegia e hipotermia.

Outro estudo que avaliou o comportamento da expressão do miRNA-499 em 04 momentos de cirurgia valvar, identificou apenas uma redução dos níveis de expressão com 24 h de PO, não identificando alterações durante o período operatório (45 min após o clampeamento da aorta e 1 h PDA) (51). No nosso estudo houve também uma redução na expressão do miRNA-499 entre 1 h e 6 h PDA ($P=0,002$), o que pode refletir o fato de que a sua liberação sofre menor influência da lesão de reperfusão.

Merece destaque que ainda não havia sido avaliado este momento (reaquecimento do paciente) de injúria tecidual durante uma cirurgia cardíaca com

CEC e o fato de ele ter detectado alterações mais precoces que outros estudos, os quais somente avaliaram os níveis circulantes dos miRNAs com 1 h PD da aorta, refletem que o dano ao tecido miocárdico é mais precoce do que se conhecia.

Em estudo mais recente, Emanuelli et al avaliaram a expressão dos miRNAs-1, 24, 133a/b, 208a/b, que tem relação com o tecido cardíaco e o miRNA-122, não relacionado ao sistema cardiovascular e evidenciaram elevações nas concentrações dos miRNAs-1, 133a e 133b com 24 h e 48 h após a realização de CRM com CEC. Os tempos avaliados nesse estudo foram pré-indução anestésica, no transoperatório (antes do início da CEC) e com 24 h e 48 h de PO (39). Não houve, portanto, uma correlação com o tempo de desclampamento da aorta.

Os achados das nossas análises de expressão do miRNA-133a apresentaram uma discreta elevação nos 03 tempos de aferição em relação ao controle. Esse miRNA foi o que apresentou a menor média de expressão entre os tempos verificados no período perioperatório, com um comportamento de decréscimo na coleta de 6 h PDA em relação ao de 1 h PDA, semelhante ao descrito por Yao et al (21).

Com relação às correlações entre os miRNAs e os marcadores bioquímicos foi identificada correlação do miRNA-1 com a troponina I ($r=0,4893$, $P=0,0025$), o que é embasado por estudos prévios (31,51,63) e que reflete a injúria tecidual miocárdica provocada pela manipulação do coração e pela própria CEC. Ressalta-se aqui a primeira evidência no cenário brasileiro dessa correlação e do seu potencial uso como biomarcador de lesão miocárdica em cirurgias cardíacas.

Estudo de Yang et al (51) evidenciou uma correlação negativa do miRNA-499 com os níveis de CK-MB e troponina I, ressaltando não haver evidência que justifique a expressão desse miRNA pela injúria de reperfusão do tecido isquêmico. Nosso estudo também não evidenciou a correlação com os três marcadores bioquímicos, provavelmente porque o nível de expressão relativa do miRNA-499 com 6 h PDA foi o de menor valor, período no qual os marcadores bioquímicos convencionais apresentaram tendência à elevação. Apenas uma evidência na literatura correlacionou positivamente o miRNA-499 com os níveis séricos de troponina I em estudo com 117 pacientes e incidência de 23,9% de IAM (21).

Merece destaque a correlação do miRNA-1 com o lactato ($r=0,5689$ $P=0,0002$) que aponta para a primeira evidência de que um miRNA se relacione com o estado de hipoperfusão e oxigenação tecidual, monitorados por meio do lactato sérico. Essa comprovação descortina horizontes para que estudos sejam realizados no sentido de estabelecer a sua aplicação na prática clínica.

A literatura é escassa acerca do impacto da cirurgia cardíaca na liberação dos miRNAs e a metodologia para avaliação das suas expressões ainda carece de uma padronização, para que sejam cotejados os resultados de maneira mais uniforme, haja uma possibilidade de reprodutibilidade e também se estabeleçam os limiares de referência para avaliação de algum grau mais significativo de injúria ao tecido cardíaco. Além disso, o impacto sobre os desfechos PO está limitado a um único estudo, que detectou uma correlação entre a expressão do miRNA-499 e a troponina I com o IAM (21).

8.1 PERSPECTIVAS

Alguns dos dados obtidos neste estudo foram inéditos, entretanto há necessidade de outros estudos que abordem a relação dos miRNAs com os biomarcadores séricos tradicionais, tanto de lesão e necrose miocárdica, como de hipoperfusão tecidual, identificação dos períodos mais representativos da injúria miocárdica, permitindo uma caracterização mais definitiva desses complexos nucleotídicos como novos biomarcadores, mais precoces, sensíveis e específicos da lesão miocárdica, do que os convencionalmente utilizados.

A identificação desses novos marcadores bioquímicos ideais tem por objetivo estabelecer medidas que possam ser tomadas, com maior agilidade e capacidade de reverter os efeitos deletérios sobre as cirurgias cardíacas que comprometem os resultados finais e a morbimortalidade dos pacientes.

9 CONCLUSÕES

Este estudo determinou os níveis séricos de troponina I, CK-MB e lactato e os níveis de expressão dos miRNAs 1, 133a e 499 em 115 pacientes submetidos a cirurgias cardíacas sob CEC, visando verificar se essas alterações estão relacionadas com os desfechos perioperatórios. Os resultados obtidos permitiram concluir que:

As médias dos níveis de expressão dos miRNAs nos 24 pacientes avaliados foram: 20,7 vezes aos 34°C, 7,74 vezes com 1 h PDA e 53,07 vezes com 6 h PDA para o miRNA-1, quando comparados ao controle; 5,3 vezes aos 34°C, 7,8 vezes com 1 h PDA e 2,39 vezes com 6 h PDA para o miRNA-133a, quando comparados ao controle e 8,06 vezes aos 34°C, 20,1 vezes com 1 h PDA e 3,71 vezes com 6 h PDA para o miRNA-499, quando comparados com a expressão do gene constitutivo U6.

Os níveis séricos de CK-MB, troponina I e lactato foram avaliados em 115 pacientes no período perioperatório e apresentaram os seguintes picos de elevação: CK-MB de $40,12 \pm 28,77$ U/L com 12 h PDA no grupo CRM e $48,93 \pm 7,26$ U/L com 3 h PDA no grupo valvar; troponina I de $5.353,31 \pm 843,19$ pg/ml no grupo CRM e $5.654 \pm 1.067,63$ pg/ml no valvar, ambos com 12 h PDA e lactato de $3,22 \pm 0,27$ mmol/L no grupo CRM e de $3,47 \pm 0,45$ mmol/L, ambos com 6 h PDA.

Foi detectada uma correlação entre os níveis séricos de CK-MB nos períodos de 6 h ($P=0,0032$) e 12 h ($P=0,001$) PDA e a ocorrência de IAM perioperatório no grupo CRM. No grupo valvar, os níveis séricos de CK-MB se correlacionaram com a FEVE > 40% nos períodos de coleta de 3 h ($P=0,012$), 6 h ($P=0,011$) e 12 h ($P=0,019$) PDA.

Os níveis séricos de troponina I na indução se correlacionaram com a FEVE \leq 40% ($P=0,009$), com DM ($P=0,040$), IAM prévio ($P<0,001$) e recente ($P<0,001$) no pré-operatório e com a necessidade de BIA ($P=0,010$), com a ocorrência de IRA PO ($P=0,041$). Também foram correlacionados com IAM perioperatório (12 h – $P=0,012$ e 24 h – $P=0,017$ PDA), com um maior período de internação hospitalar (12 h – $P=0,013$ e 24 h PDA – $P=0,006$) e com a mortalidade (coleta das 24 h PDA –

$P=0,033$) no grupo CRM. Já no grupo valvar, não houve relação dos níveis de troponina I com os desfechos pós-operatórios. Os níveis séricos de lactato apresentaram associação com a FEVE > 40% nos períodos de 3 h – $P=0,009$, 6 h – $P=0,010$ e 12 h PDA – $P=0,005$ e com os pacientes sem IRC ($P=0,014$) e com IAM recente ($P=0,036$) na coleta da indução. Também apresentaram correlação com a mortalidade na coleta realizada com 12 h PDA ($P=0,036$).

Foi identificada correlação do miRNA-1 com a troponina I ($r=0,4893$, $P=0,0025$). Não foi evidenciada correlação do miRNA-133a e miRNA-499 com os três marcadores bioquímicos CK-MB, troponina I e lactato. A correlação do miRNA-1 com o lactato ($r=0,5689$, $P=0,0002$) apontou para a primeira evidência de que um miRNA se relaciona com o estado de hipoperfusão e oxigenação tecidual, monitorados pelo lactato sérico.

Os dados obtidos evidenciaram uma correlação entre o miRNA-1 com os marcadores bioquímicos de lesão miocárdica e perfusão tecidual e permitirão que se explore, em futuros estudos, o potencial desses complexos nucleotídeos para o diagnóstico, monitoramento e terapia das patologias e cirurgias cardíacas.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mack M, Gopal A. Epidemiology, traditional and novel risk factors in coronary artery disease. *Cardiol Clin* [Internet]. 2014;32(3):323–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccl.2014.04.003>
 2. Lima Rde C, Kubrusly LF, Nery AC, Pinheiro BB, Brick AV, de Souza DS et al. Guidelines for myocardial revascularization surgery. *Arq Bras Cardiol*. 2004;82(Suppl 5):1–20.
 3. Kolh P, Windecker S, Alfonso F, Collet JP, Cremer J, Falk V, et al. 2014 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *Eur J Cardio-thoracic Surg*. 2014;46(4):517–92.
 4. Patel MR, Calhoun JH, Dehmer GJ, Grantham JA, Maddox TM, Maron DJ, et al. ACC/AATS/AHA/ASE/ASNC/SCAI/SCCT/STS 2017 Appropriate Use Criteria for Coronary Revascularization in Patients With Stable Ischemic Heart Disease. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2017;69(17):2212–41. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0735109717303856>
 5. Cohn LH. *Cardiac Surgery in the Adult*. Fourth Edi. McGrawHill Medical; 2012.
 6. Tarasoutchi F, Montera M, Grinberg M, Barbosa M, Piñeiro D, Sánchez C, et al. Diretriz Brasileira de Valvopatias - SBC 2011/ I Diretriz Interamericana de Valvopatias - SIAC 2011. *Arq Bras Cardiol*. 2011;97(5):01–67.
 7. Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO, Carabello BA, Erwin JP, Guyton RA, et al. 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with valvular heart disease: Executive summary :A report of the american college of cardiology/american heart association task force on practice guidelines. Vol. 129, *Circulation*. 2014. 2440-2492 p.
 8. Nishimura RA, Otto CM. 2017 AHA/ACC Focused Update of the 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients With Valvular Heart Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*. 2017. 1-123 p.
 9. Vahanian A, Alfieri O, Andreotti F, Antunes MJ, Barón-Esquivias G, Baumgartner H, et al. Guidelines on the management of valvular heart disease (version 2012). *Eur Heart J*. 2012;33(19):2451–96.
 10. PZ IG. *As Cardiopatias no Brasil - Epidemiologia*. 2010;
 11. Timmis A, Townsend N, Gale C, Grobbee R, Maniadakis N, Flather M, et al. European Society of Cardiology: Cardiovascular Disease Statistics 2017. *Eur Heart J* [Internet]. 2017;(November):1–72. Available from: <http://academic.oup.com/eurheartj/advance-article/doi/10.1093/eurheartj/ehx628/4658838>
-

12. Dong H, Lei J, Ding L, Wen Y, Ju H, Zhang X. MicroRNA: Function, detection, and bioanalysis. Vol. 113, Chemical Reviews. 2013. p. 6207–33.
 13. Lee RC. The *C. elegans* Heterochronic Gene *lin-4* Encodes Small RNAs with Antisense Complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993;75:843–54.
 14. Ruvkun G. Molecular biology: Glimpses of a tiny RNA world. *Science* (80-). 2001;294(5543):797–9.
 15. Sandoval TB. Análise da expressão de microRNAs e alvos candidatos em carcinomas epidermóides de cabeça e pescoço Analysis of the expression of microRNAs and carcinoma Análise da expressão de microRNAs e alvos candidatos em carcinomas epidermóides de cabeça e pescoço A. 2011;1–86.
 16. Wang F, Chen C, Wang D. Circulating microRNAs in cardiovascular diseases: from biomarkers to therapeutic targets. *Front Med*. 2014;8(4):404–18.
 17. Díaz Carrasco I, Guisado Rasco A, Fernández Ordoñez A. ¿Qué son los micro-RNA? ¿Para qué sirven? ¿Qué potenciales beneficios podrían tener en el contexto asistencial? *Cardiocore*. 2016;51(4):161–6.
 18. Chistiakov DA, Orekhov AN, Bobryshev Y V. Cardiac-specific miRNA in cardiogenesis, heart function, and cardiac pathology (with focus on myocardial infarction). *J Mol Cell Cardiol* [Internet]. 2016;94:107–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2016.03.015>
 19. Van Empel VPM, De Windt LJ, Da Costa Martins PA. Circulating miRNAs: Reflecting or affecting cardiovascular disease? *Curr Hypertens Rep*. 2012;14(6):498–509.
 20. Fichtlscherer S, De Rosa S, Fox H, Schwietz T, Fischer A, Liebetrau C, et al. Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease. *Circ Res*. 2010;107(5):677–84.
 21. Yao Y, Du J, Cao X, Wang Y, Huang Y, Hu S, et al. Plasma levels of microRNA-499 provide an early indication of perioperative myocardial infarction in coronary artery bypass graft patients. *PLoS One*. 2014;9(8):1–8.
 22. Li T, Cao H, Zhuang J, Wan J, Guan M, Yu B, et al. Identification of miR-130a, miR-27b and miR-210 as serum biomarkers for atherosclerosis obliterans. *Clin Chim Acta*. 2011;412(1–2):66–70.
 23. Long G, Wang F, Duan Q, Yang S, Chen F, Gong W, et al. Circulating miR-30a, miR-195 and let-7b Associated with Acute Myocardial Infarction. *PLoS One*. 2012;7(12):1–8.
 24. Jiang Y, Wang H, Li Y, Guo S, Zhang L, Cai J, et al. Peripheral blood miRNAs as a biomarker for chronic cardiovascular diseases. *Sci Rep* [Internet]. 2014;4:5026. Available from: <http://www.nature.com/srep/2014/140522/srep05026/full/srep05026.html>
 25. He F, Lv P, Zhao X, Wang X, Ma X, Meng W, et al. Predictive value of
-

- circulating miR-328 and miR-134 for acute myocardial infarction. *Mol Cell Biochem.* 2014;394(1–2):137–44.
26. Widera C, Gupta SK, Lorenzen JM, Bang C, Bauersachs J, Bethmann K, et al. Diagnostic and prognostic impact of six circulating microRNAs in acute coronary syndrome. *J Mol Cell Cardiol* [Internet]. 2011;51(5):872–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2011.07.011>
 27. Fu X, Zhou Y, Cheng Z, Liao X, Zhou X. MicroRNAs: Novel Players in Aortic Aneurysm. *Biomed Res Int* [Internet]. 2015;2015:831641. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26221607> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4499374>
 28. Van Solingen C, Seghers L, Bijkerk R, Duijs JMGJ, Roeten MK, Van Oeveren-Rietdijk AM, et al. Antagomir-mediated silencing of endothelial cell specific microRNA-126 impairs ischemia-induced angiogenesis. *J Cell Mol Med.* 2009;13(8 A):1577–85.
 29. Van Der Ree MH, Van Der Meer AJ, De Bruijne J, Maan R, Van Vliet A, Welzel TM, et al. Long-term safety and efficacy of microRNA-targeted therapy in chronic hepatitis C patients. *Antiviral Res* [Internet]. 2014;111:53–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.08.015>
 30. Barwari T, Joshi A, Mayr M. MicroRNAs in Cardiovascular Disease. *J Am Coll Cardiol.* 2016;68(23):2577–84.
 31. Zhou X, Mao A, Wang X, Duan X, Yao Y, Zhang C. Urine and Serum MicroRNA-1 as Novel Biomarkers for Myocardial Injury in Open-Heart Surgeries with Cardiopulmonary Bypass. *PLoS One.* 2013;8(4):8–11.
 32. Demers P, Phane Elkouri S, Martineau R, Couturier A, Cartier R. Outcome With High Blood Lactate Levels During Cardiopulmonary Bypass in Adult Cardiac Operation. *Ann Thorac Surg.* 2000;70(0):2082–6.
 33. Shinde SB, Golam KK, Kumar P, Patil ND. Blood Lactate Levels During Cardiopulmonary Bypass for Valvular Heart Surgery. 2005;8:39–44.
 34. Ghaffari S, Malaki M. Arterial lactate level changes in first day after cardiac operation. *J Cardiovasc Thorac Res.* 2013;5(4):143–5.
 35. Joladarashi D, Thandavarayan RA, Babu SS, Krishnamurthy P. Small engine, big power: MicroRNAs as regulators of cardiac diseases and regeneration. *Int J Mol Sci.* 2014;15(9):15891–911.
 36. Park S-J, Kim H-S, Byon H-J, Kim C-S, Cheong I-Y, Kim J-T. Intraoperative Plasma Lactate as an Early Indicator of Major Postoperative Events in Pediatric Cardiac Patients. *Tohoku J Exp Med* [Internet]. 2012;228(3):239–45. Available from: <http://japanlinkcenter.org/DN/JST.JSTAGE/tjem/228.239?lang=en&from=CrossRef&type=abstract>
 37. Hajjar LA, Almeida JP, Fukushima JT, Rhodes A, Vincent J-L, Osawa EA, et al.
-

- High lactate levels are predictors of major complications after cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* [Internet]. 2013;146(2):455–60. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022522313001530>
38. Lopez-Delgado JC, Esteve F, Javierre C, Torrado H, Rodriguez-Castro D, Carrio ML, et al. Evaluation of Serial Arterial Lactate Levels as a Predictor of Hospital and Long-Term Mortality in Patients after Cardiac Surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* [Internet]. 2015;29(6):1441–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.jvca.2015.04.024>
 39. Emanuelli C, Shearn AIU, Laftah A, Fiorentino F, Reeves BC, Beltrami C, et al. Coronary artery-bypass-graft surgery increases the plasma concentration of exosomes carrying a cargo of cardiac microRNAs: An example of exosome trafficking out of the human heart with potential for cardiac biomarker discovery. *PLoS One* [Internet]. 2016 [cited 2017 Apr 14];11(4). Available from: <http://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0154274&type=printable>
 40. Wallimann T, Wyss M, Brdiczka D, Nicolay K, Eppenberger HM. Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the “phosphocreatine circuit” for cellular energy homeostasis. *Biochem J*. 1992;281(Pt 1):21–40.
 41. Nobre F, Jr. CVS. *Tratado de Cardiologia SOCESP*. 1ª Edição. Barueri, SP; 2005. 650-661 p.
 42. Park KC, Gaze DC, Collinson PO, Marber MS. Cardiac troponins: from myocardial infarction to chronic disease. *Cardiovasc Res* [Internet]. 2017;(October). Available from: <http://academic.oup.com/cardiovascres/article/doi/10.1093/cvr/cvx183/4158239/Cardiac-troponins-from-myocardial-infarction-to>
 43. Piegas L, Timerman A, Feitosa G, Nicolau J, Mattos L, Andrade M, et al. V Diretriz Da Sociedade Brasileira De Cardiologia Sobre Tratamento Do Infarto Agudo Do Miocárdio Com Supradesnível Do Segmento St. *Arq Bras Cardiol*. 2015;105(2).
 44. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD. Third Universal Definition of Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60(16):1581–98.
 45. Domanski MJ, Mahaffey K, Hasselblad V, Brener SJ, Smith PK, Hillis G, et al. Association of Myocardial Enzyme Elevation and Survival Following Coronary Artery Bypass Graft Surgery. *J Am Med Assoc*. 2011;305(6):585–91.
 46. Moon MH, Song H, Wang YP, Jo KH, Kim CK, Cho K Do. Changes of cardiac troponin i and operative mortality of coronary artery bypass. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*. 2014;22(1):40–5.
 47. Adabag AS, Rector T, Mithani S, Harmala J, Ward HB, Kelly RF, et al. Prognostic Significance of Elevated Cardiac Troponin I After Heart Surgery. *Ann Thorac Surg*. 2007;83(5):1744–50.
-

48. Buratto E, Conaglen P, Dimitriou J, Shan L, Yii MY, Rosalion A, et al. Predicting adverse outcomes in elective coronary artery bypass graft surgery using pre-operative troponin I levels. *Hear Lung Circ* [Internet]. 2014;23(8):711–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.hlc.2014.03.005>
 49. Piegas L, Timerman A, Feitosa G, Nicolau J, Mattos L, Andrade M, et al. V Diretriz Da Sociedade Brasileira De Cardiologia Sobre Tratamento Do Infarto Agudo Do Miocárdio Com Supradesnível Do Segmento St. *Arq Bras Cardiol* [Internet]. 2015;105(2). Available from: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/abc.20150107>
 50. Nicolau J, Timerman A, Marin-Neto J, Piegas L, Barbosa C, Franci A. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Angina Instável e Infarto Agudo do Miocárdio sem Supradesnível do Segmento ST. *Arq Bras Cardiol*. 2014;102:1–61.
 51. Yang W, Shao J, Bai X, Zhang G. Expression of Plasma microRNA-1/21/208a/499 in myocardial ischemic reperfusion injury. *Cardiology* [Internet]. 2015;130(4):237–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25791720>
 52. Bye A, Røsjø H, Nauman J, Silva GJJ, Follestad T, Omland T, et al. Circulating microRNAs predict future fatal myocardial infarction in healthy individuals - The HUNT study. *J Mol Cell Cardiol* [Internet]. 2016;97:162–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2016.05.009>
 53. Cadore MP, Guaragna JC, Anacker JF, Albuquerque LC, Bodanese LC, Piccoli Jda C, et al. A score proposal to evaluate surgical risk in patients submitted to myocardial revascularization surgery. *Rev Bras Cir Cardiovasc* [Internet]. 2010;25(4):447–56. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=21340373
 54. Piantá RM, Ferrari ADL, Heck AA, Ferreira DK, Piccoli J da CE, Albuquerque LC, et al. Atrioventricular block in coronary artery bypass surgery: perioperative predictors and impact on mortality. *Rev Bras Cir Cardiovasc* [Internet]. 2014;164–72. Available from: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1678-9741.20140086>
 55. Ramsay J, Shernan S, Fitch J, Finnegan P, Todaro T, Filloon T, et al. Increased creatine kinase MB level predicts postoperative mortality after cardiac surgery independent of new Q waves. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2005;129(2):300–7.
 56. Mastro F, Guida P, Scrascia G, Rotunno C, Amorese L, Carrozzo A, et al. Cardiac troponin i and creatine kinase-MB release after different cardiac surgeries. *J Cardiovasc Med*. 2015;16(6):456–64.
 57. Costa M a, Carere RG, Lichtenstein S V, Foley DP, de Valk V, Lindenboom W, et al. Incidence, predictors, and significance of abnormal cardiac enzyme rise in patients treated with bypass surgery in the arterial revascularization
-

- therapies study (ARTS). *Circulation*. 2001;104(22):2689–93.
58. Petäjä L, Salmenperä M, Pulkki K, Pettilä V. Biochemical injury markers and mortality after coronary artery bypass grafting: a systematic review. *Ann Thorac Surg* [Internet]. 2009;87(6):1981–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19463650>
59. Gavard J a, Chaitman BR, Sakai S, Stocke K, Danchin N, Erhardt L, et al. Prognostic significance of elevated creatine kinase MB after coronary bypass surgery and after an acute coronary syndrome: results from the GUARDIAN trial. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2003;126(3):807–13.
60. Fellahi J-L, Hedoire F, Le Manach Y, Monier E, Guillou L, Riou B. Determination of the threshold of cardiac troponin I associated with an adverse postoperative outcome after cardiac surgery: a comparative study between coronary artery bypass graft, valve surgery, and combined cardiac surgery. *Crit Care* [Internet]. 2007;11(5):R106. Available from: <http://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/cc6126>
61. Alyanakian M a, Dehoux M, Chatel D, Seguret C, Desmots JM, Durand G, et al. Cardiac troponin I in diagnosis of perioperative myocardial infarction after cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* [Internet]. 1998;12(3):288–94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9636910>
62. Evora PRB, Pearson PJ, Seccombe JF, Schaff H V, Preto R, Mn SPR. Lesão de Isquemia-Reperusão . Aspectos Fisiopatológicos e a Importância da Função Endotelial. *Arq Bras Cardiol*. 1996;66(4):239–45.
63. Emanuelli C, Shearn AIU, Laftah A, Fiorentino F, Reeves BC, Beltrami C, et al. Coronary artery-bypass-graft surgery increases the plasma concentration of exosomes carrying a cargo of cardiac microRNAs: An example of exosome trafficking out of the human heart with potential for cardiac biomarker discovery. *PLoS One*. 2016;11(4).
-

ANEXOS

ANEXO 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DOS MICRORNAs E NÍVEIS SÉRICOS DE CK-MB, TROPONINA E LACTATO COMO MARCADORES DE EVENTOS PERIOPERATÓRIOS EM CIRURGIA CARDÍACA

Você está sendo convidado a participar da pesquisa intitulada “AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DOS miRNAs E NÍVEIS DE CK-MB, TROPONINA E LACTATO COMO MARCADORES DE EVENTOS PERIOPERATÓRIOS EM CIRURGIA CARDÍACA”.

I. Justificativa e objetivos da pesquisa: Detectar pequenas proteínas no sangue, liberadas pelo seu coração quando ele sofre algum grau de agressão, antes, durante e logo depois de sua cirurgia, que poderá auxiliar no acompanhamento da sua recuperação.

II. O objetivo desse projeto: Identificar se marcadores séricos como a creatinaquinase-MB, a troponina, o lactato e os microRNAs dosados durante a cirurgia cardíaca, podem fornecer informações sobre alguma alteração decorrente da cirurgia e se eles se correlacionam. A identificação precoce dessas alterações permitirá uma correção prévia ao desfecho desfavorável.

III. Procedimentos a serem utilizados: Será introduzida uma pequena agulha no seu braço esquerdo para que seja realizada a coleta do sangue e, logo após, você receberá a anestesia. Durante a sua cirurgia, o sangue será retirado de um cateter (pequeno cano flexível). O material será enviado a um laboratório onde seu sangue será analisado para detecção dos marcadores.

IV. Desconfortos ou riscos esperados: Você não sentirá nenhum desconforto além daquele habitual da agulha de coleta do sangue. O risco relacionado ao procedimento de coleta é a possibilidade da formação de um pequeno arroxamento no local da picada da agulha. A coleta de sangue que será realizada antes, durante e no seu pós-operatório já fazem parte dos procedimentos de rotina para o controle da sua recuperação. A coleta é rápida e será realizada pelo anestesista, não interferindo na atenção do cirurgião, nem mesmo no tempo normal do procedimento cirúrgico e nos desfechos de cicatrização e recuperação.

V. Os benefícios que se pode obter: O benefício em participar desta pesquisa é que você estará contribuindo para um estudo inédito que buscará detectar novos sinalizadores de alteração em seu coração que poderão ajudar na identificação mais precoce de alterações na cirurgia cardíaca, as quais, sendo corrigidas permitirão um melhor resultado pós-operatório.

VI. Custos de participação, liberdade de abandono e garantia de privacidade:

Não haverá nenhum custo com a sua participação nesta pesquisa. Caso você decida não participar, não sofrerá nenhum prejuízo no atendimento dispensado a você. A decisão de não participar do estudo não irá afetar o seu atendimento. Será garantida toda privacidade em relação à sua participação, bem como com o resultado dos experimentos, sendo esses utilizados apenas em produções científicas com total sigilo em relação à identidade dos participantes. Você poderá retirar o seu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo.

VII. Armazenamento: Seu material será armazenado somente até a conclusão do estudo previsto para dezembro de 2019. Entretanto, a qualquer momento você poderá solicitar o descarte do seu material, caso você não queira mais participar do estudo.

VIII. Qualquer dúvida ou intercorrência você poderá em contato como o Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS (CEP-PUCRS) no telefone: 0xx51 – 33203345. Localizado à Av. Ipiranga, 6681, Prédio 40, sala 505, CEP 90619-900, nos horários das 08:00 às 11:30 e das 14:00 às 17:30. Alternativamente, poderei entrar em contato com o Dr. Ricardo Medeiros Piantá no telefone 0xx51 99781182 em qualquer horário.

O comitê de ética possui a função de pronunciar-se quanto aos aspectos ético-metodológicos da pesquisa que envolve seres humanos visando garantir a observância das normas e diretrizes pertinentes, promovendo o desenvolvimento da pesquisa eticamente correta.

Assinatura do participante da pesquisa

Assinatura do pesquisador

ANEXO 2 - TERMO DE COMPROMISSO PARA UTILIZAÇÃO DE DADOS

Título do Projeto

AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DOS MICRORNAs E NÍVEIS DE CK-MB, TROPONINA E LACTATO COMO MARCADORES DE EVENTOS PERIOPERATÓRIOS EM CIRURGIA CARDÍACA.

Os autores do projeto de pesquisa se comprometem a manter o sigilo dos dados coletados em bases de dados referentes aos participantes da pesquisa intitulada “AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DOS MICRORNAs E NÍVEIS DE CK-MB, TROPONINA E LACTATO COMO MARCADORES DE EVENTOS PERIOPERATÓRIOS EM CIRURGIA CARDÍACA”.

Os pesquisadores concordam, igualmente, que tais informações serão utilizadas única e exclusivamente com finalidade científica, preservando-se integralmente o anonimato dos participantes.

Porto Alegre, 22 de setembro de 2015.

Autores do Projeto	
Nome	Assinatura
Profa. Dra. Denise Cantarelli Machado	
Dr. Ricardo Medeiros Piantá	

ANEXO 3 - APROVAÇÃO DO CEP

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DOS MICRORNAs E NÍVEIS SÉRICOS DE CK-MB, TROPONINA E LACTATO COMO MARCADORES DE EVENTOS PERIOPERATÓRIOS EM CIRURGIA CARDÍACA

Pesquisador: Denise Cantarelli Machado

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 50459915.4.0000.5336

Instituição Proponente: UNIAO BRASILEIRA DE EDUCACAO E ASSISTENCIA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.335.843

Apresentação do Projeto:

Título: AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DOS MICRORNAs E NÍVEIS SÉRICOS DE CK-MB, TROPONINA E LACTATO COMO MARCADORES DE EVENTOS PERIOPERATÓRIOS EM CIRURGIA CARDÍACA

Pesquisador responsável: Dr. Denise Cantarelli Machado

Assistentes: Ricardo Medeiros Piantá, João Carlos Vieira da Costa Guaragna

Objetivo da Pesquisa:

Primário:

Verificar se os miRNAs, a troponina, a CK-MB e o lactato estão relacionados com a apresentação clínica de cardiopatia isquêmica e valvar e com os desfechos das cirurgias cardíacas sob CEC.

Secundário:

Descrever os níveis de expressão dos miRNAs no sangue periférico de pacientes portadores de cardiopatia isquêmica e valvar; Descrever os níveis séricos de troponina, CK-MB e lactato nos pacientes portadores de cardiopatia isquêmica e valvar no período perioperatório; Verificar se há relação entre os níveis expressão dos miRNAs com apresentação clínica das cardiopatias isquêmica e valvar e com os desfechos das cirurgias cardíacas entre os níveis expressão dos miRNAs com apresentação clínica das cardiopatias isquêmica e valvar e com os desfechos das cirurgias

Endereço: Av. Ipiranga, 6681, prédio 40, sala 505
Bairro: Partenon **CEP:** 90.619-900
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3320-3345 **Fax:** (51)3320-3345 **E-mail:** cep@pucls.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



Continuação do Parecer: 1.335.843

cardíacas se há relação entre os níveis séricos de troponina, CK-MB e lactato com os níveis de expressão dos microRNAs no sangue periférico de pacientes se há relação entre os níveis séricos de troponina, CK-MB e lactato com os níveis de expressão dos microRNAs no sangue periférico de pacientes

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A avaliação dos riscos e benefícios parece adequada.

Os riscos são mínimos. Conforme os pesquisadores, não haverá nenhum desconforto além daquele habitual da agulha de coleta do sangue. O risco relacionado ao procedimento de coleta é a possibilidade da formação de um pequeno arroxamento no local da picada da agulha. A coleta de sangue que será realizada antes, durante e no seu pós-operatório já fazem parte dos procedimentos de rotina para o controle da sua recuperação. A coleta é rápida e será realizada pelo anestesista, não interferindo na atenção do cirurgião, nem mesmo no tempo normal do procedimento cirúrgico e nos desfechos de cicatrização e recuperação.

Quanto aos benefícios, o benefício da participação da pesquisa é que o participante estará contribuindo para um estudo inédito que buscará detectar novos sinalizadores de alteração em seu coração que poderão ajudar na identificação mais precoce de alterações na cirurgia cardíaca, as quais, sendo corrigidas permitirão um melhor resultado pós-operatório.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um projeto de pesquisa do Programa de Pós-graduação em Medicina e Ciências da Saúde da PUCRS, elaborado por Ricardo Medeiros Piantá, sob orientação de Denise Cantarelli Machado (Pesquisadora responsável) e João Carlos Guaragna. É um estudo observacional prospectivo de coorte. A população-alvo será de pacientes consecutivos portadores de cardiopatia isquêmica e valvar aórtica e mitral com indicação cirúrgica pelos critérios dos Guidelines da Sociedade Brasileira de Cardiologia, Sociedade Europeia de Cardiologia e da Sociedade Americana de Cardiologia, sendo submetidos a estes procedimentos no Serviço de Cirurgia Cardiovascular do Hospital São Lucas da PUCRS. O grupo controle será composto de pacientes oriundos do Ambulatório de Cardiologia do Hospital São Lucas da PUCRS, portadores de cardiopatia isquêmica e de valvulopatia aórtica e mitral que não tenham indicação cirúrgica pelos critérios estabelecidos pelos guidelines citados acima. Será coletado 4 mL de sangue periférico em tubo vacutainer sem anticoagulante, na indução anestésica, aos 15 minutos após a instituição da CEC, no reaquecimento do paciente (em torno de 35°C), 24 horas e 48 horas de pós-operatório para

Endereço: Av. Ipiranga, 6681, prédio 40, sala 505
Bairro: Partenon **CEP:** 90.619-900
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3320-3345 **Fax:** (51)3320-3345 **E-mail:** cep@pucrs.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



Continuação do Parecer: 1.335.843

determinação dos níveis séricos de troponina, CK-MB e Para determinação dos níveis de expressão dos miRNAs 1, 21, 133a, 133b, 208a, 208b e 499 será realizada a coleta de 4 mL de sangue periférico em tubo vacutainer contendo EDTA nos mesmo intervalos. Extração de RNA total para determinação da expressão dos miRNAs 1, 21, 133a, 133b, 208a, 208b e 499 por PCR em tempo real (qPCR). Haverá coleta de dados registrados nos prontuários dos pacientes submetidos à cirurgia cardíaca e retenção de amostras para armazenamento em banco, pois, conforme os pesquisadores, há necessidade de análise de DNA e RNA extraídos dos leucócitos sanguíneos dos participantes da pesquisa. Este material será armazenado em biorrepositório somente até o final deste estudo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) está claro e objetivo, explicando os procedimentos a serem realizados na pesquisa. Ademais, são informados os procedimentos relacionados à confidencialidade dos dados a serem obtidos, bem como os contatos do CEP/PUCRS e da pesquisadora responsável. Os links do currículo (modelo Lattes) dos pesquisadores estão presentes. O estudo será realizado no Serviço de Cirurgia Cardiovascular do Hospital São Lucas/PUCRS, havendo Carta de Conhecimento/Autorização do respectivo Chefe do Serviço, Carta de Aprovação da Comissão Científica da Faculdade de Medicina da PUCRS e Declaração de Responsabilidade de Uso e de Armazenamento de Material Biológico em Biorrepositório. Enfim, quanto ao orçamento, os custos serão financiados pelos pesquisadores.

Recomendações:

Aprovação, pelo motivo abaixo.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto de pesquisa merece aprovação porque está adequado às exigências científicas e éticas.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_612856.pdf	09/11/2015 17:03:47		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_denise_alteracoes.pdf	09/11/2015 17:00:36	Denise Cantarelli Machado	Aceito

Endereço: Av. Ipiranga, 6681, prédio 40, sala 505
Bairro: Partenon **CEP:** 90.619-900
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3320-3345 **Fax:** (51)3320-3345 **E-mail:** cep@pucrs.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



Continuação do Parecer: 1.335.843

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_denise_alteracoes.docx	09/11/2015 17:00:18	Denise Cantarelli Machado	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_denise.docx	09/11/2015 16:56:32	Denise Cantarelli Machado	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_denise.pdf	09/11/2015 16:55:42	Denise Cantarelli Machado	Aceito
Outros	carta_resposta_cep.doc	09/11/2015 16:55:03	Denise Cantarelli Machado	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_assianada_jefferson.pdf	21/10/2015 17:19:25	Ricardo Medeiros Piantá	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Declaracao_Biorrepositorio.pdf	20/10/2015 18:45:10	Denise Cantarelli Machado	Aceito
Outros	Link_Lattes_Pesquisadores.docx	20/10/2015 18:04:46	Denise Cantarelli Machado	Aceito
Outros	Doc_Unif_Sipesq.pdf	20/10/2015 18:02:36	Denise Cantarelli Machado	Aceito
Outros	TCUD.pdf	20/10/2015 17:56:11	Denise Cantarelli Machado	Aceito
Outros	TCUD.doc	20/10/2015 17:55:14	Denise Cantarelli Machado	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_22_09.pdf	20/10/2015 17:50:16	Denise Cantarelli Machado	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_22_09.docx	20/10/2015 17:49:55	Denise Cantarelli Machado	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	20/10/2015 17:44:17	Denise Cantarelli Machado	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	conhecimento_chefe_servico.pdf	20/10/2015 17:40:28	Denise Cantarelli Machado	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	chefe_servico.docx	20/10/2015 17:38:44	Denise Cantarelli Machado	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	carta_chefe_servico_IPB.doc	20/10/2015 17:33:46	Denise Cantarelli Machado	Aceito
Declaração de	Formulario_IPB.pdf	20/10/2015	Denise Cantarelli	Aceito

Endereço: Av.Ipiranga, 6681, prédio 40, sala 505
Bairro: Partenon **CEP:** 90.619-900
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3320-3345 **Fax:** (51)3320-3345 **E-mail:** cep@pucls.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



Continuação do Parecer: 1.335.843

Instituição e Infraestrutura	Formulario_IPB.pdf	17:32:13	Machado	Aceito
Orçamento	Ricardo.xls	20/10/2015 17:02:34	Denise Cantarelli Machado	Aceito
Cronograma	Cronograma.jpg	20/10/2015 16:57:28	Denise Cantarelli Machado	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 24 de Novembro de 2015

Assinado por:
Rodolfo Herberto Schneider
(Coordenador)

Endereço: Av.Ipiranga, 6681, prédio 40, sala 505
Bairro: Partenon **CEP:** 90.619-900
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3320-3345 **Fax:** (51)3320-3345 **E-mail:** cep@pucls.br

APÊNDICES

APÊNDICE 1 - TABELAS

Tabela 7. Comparação e correlação das medianas da CK-MB (U/L) com as variáveis perioperatórias nos pacientes submetidos à CRM.

Parâmetros	Tempos de coleta Creatinoquinase-MB (U/L)											
	N	Indução	P*	N	Após 3 horas	P*	N	Após 6 horas	P*	N	Após 12 horas	P*
Demográficos												
Idade	85	0,034	0,761 ^a	80	0,114	0,312 ^a	83	0,129	0,245 ^a	83	0,121	0,276 ^a
Homens	59	4,0 (3,0-8,0)	0,317	57	34,0 (29,0-43,5)	0,44	58	31,0 (25,8-38,5)	0,669	57	23,0 (16,5-39,5)	0,455
Mulheres	26	5,0 (3,0-8,3)		23	37,0 (27,0-49,0)	1	25	32,0 (21,5-53,5)		26	25,0 (20,0-43,8)	
Pré-operatórios												
Fração de ejeção												
> 40%	64	4,0 (3,0-8,0)	0,930	60	34,0 (28,0-43,8)	0,38	63	32,0 (25,0-40,0)	0,687	64	23,0 (18,3-42,8)	0,614
≤ 40%	14	4,0 (3,0-8,5)		14	36,0 (28,8-53,5)	8	14	27,5 (22,0-45,3)		13	23,0 (15,5-32,5)	
Sem IRC	57	5,0 (3,0-8,0)	0,977	53	35,0 (27,5-46,5)	0,87	56	32,0 (25,0-44,8)	0,816	57	23,0 (18,5-44,5)	0,294
Com IRC	22	4,0 (3,0-8,3)		22	34,0 (31,0-39,5)	0	22	31,5 (25,8-37,3)		21	22,0 (16,5-30,5)	
Sem DM	41	4,0 (3,0-8,5)	0,783	40	37,0 (31,0-48,5)	0,14	41	34,0 (26,5-47,0)	0,029	42	25,0 (18,8-43,3)	0,399
Com DM	38	4,0 (3,0-8,0)		35	34,0 (28,0-40,0)	1	37	30,0 (25,0-33,0)		36	22,0 (17,3-36,8)	
Sem IAM prévio	33	6,0 (3,0-8,0)	0,339	30	38,5 (31,8-47,5)	0,05	31	33,0 (26,0-47,0)	0,274	32	23,5 (19,3-42,5)	0,437
Com IAM prévio	46	3,5 (3,0-9,0)		45	34,0 (27,5-41,0)	1	47	31,0 (23,0-40,0)		46	21,5 (15,3-39,0)	
Sem IAM recente	38	6,0 (3,0-8,3)	0,046	36	37,0 (28,3-44,8)	0,43	37	32,0 (24,0-42,5)	0,596	38	23,0 (19,0-41,5)	0,682
Com IAM recente	41	3,0 (3,0-8,0)		39	34,0 (28,0-44,0)	2	41	31,0 (25,5-40,0)		40	23,0 (13,8-41,0)	
Transoperatórios												
Tempo de CEC												
< 90 min	58	4,0 (3,0-8,0)	0,695	56	34,0 (28,3-42,5)	0,13	58	31,0 (24,5-40,0)	0,304	58	21,5 (16,8-39,3)	0,050
≥ 90 min	26	4,0 (3,0-8,3)		24	38,5 (31,0-51,3)	7	25	34,0 (26,0-44,5)		25	29,0 (21,0-52,0)	

Apêndices

Tempo pinçamento													
< 40 min	23	4,0 (3,0-6,0)	0,665	23	33,0 (27,0-44,0)	0,24	23	26,0 (21,0-38,0)	0,150	23	24,0 (15,0-38,0)	0,439	
≥ 40 min	61	5,0 (3,0-8,0)		57	35,0 (30,5-45,0)	6	60	32,0 (27,0-41,8)		60	23,0 (19,3-41,8)		
Sem balão intra-aórtico	69	5,0 (3,0-8,0)	0,545	65	34,0 (28,0-42,5)	0,06	68	31,5 (25,0-39,5)	0,419	68	23,0 (18,3-40,5)	0,852	
Com balão intra-aórtico	10	3,5 (3,0-8,3)		10	46,0 (31,3-72,0)	9	10	38,5 (23,8-59,5)		10	29,5 (12,0-49,8)		
Pós-operatórios													
Sem AVC	74	4,0 (3,0-8,0)	0,875	70	35,0 (28,8-44,3)	0,50	73	32,0 (25,5-41,5)	0,736	73	23,0 (18,5-41,5)	0,984	
Com AVC	5	4,0 (3,0-8,5)		5	32,0 (24,0-43,5)	3	5	32,0 (21,0-41,0)		5	23,0 (14,0-112,0)		
Sem IRA	64	4,0 (3,0-8,0)	0,272	60	35,0 (27,3-44,0)	0,59	63	32,0 (25,0-42,0)	0,995	64	22,5 (18,5-40,5)	0,303	
Com IRA	15	6,0 (3,0-9,0)		15	34,0 (32,0-45,0)	1	15	32,0 (27,0-36,0)		14	34,0 (18,8-50,3)		
Sem IAM	73	5,0 (3,0-8,5)	0,008	69	34,0 (28,5-44,0)	0,98	72	31,0 (25,0-40,0)	0,032	72	21,5 (18,0-37,0)	0,001	
Com IAM	6	3,0 (3,0-3,0)		6	35,0 (24,0-49,5)	4	6	41,5 (33,0-55,8)		6	85,5 (62,8-162,3)		
Sem mediastinite	75	4,0 (3,0-8,0)	0,553	70	34,0 (28,0-44,3)	0,65	73	31,0 (25,0-42,5)	0,639	74	23,0 (18,0-41,3)	0,563	
Com mediastinite	4	4,0 (3,0-7,3)		5	38,0 (30,0-43,0)	5	5	36,0 (26,5-39,0)		4	21,0 (11,8-43,0)		
Tempo permanência hospital													
Pós-cirurgia	79	0,019	0,865 ^a	75	0,065	0,578 ^a	78	0,106	0,358 ^a	78	0,072	0,530 ^a	
Sem óbito	73	5,0 (3,0-8,5)	0,024	68	34,5 (28,3-44,8)	0,77	71	32,0 (25,0-41,0)	0,457	72	23,0 (18,3-40,5)	0,844	
Com óbito	6	3,0 (3,0-3,3)		7	36,0 (27,0-44,0)	8	7	36,0 (27,0-49,0)		6	26,0 (16,0-54,3)		

*Teste Mann-Whitney; a: Teste Correlação de Spearman. Os dados estão apresentados por mediana e intervalo interquartil; IRC: insuficiência renal crônica; DM: diabetes mellitus; IAM: infarto agudo do miocárdio; CEC: Circulação extracorpórea; AVC: acidente vascular cerebral; IRA: insuficiência renal aguda.

Tabela 8. Comparação e correlação das medianas da CK-MB (U/L) com as variáveis perioperatórias nos pacientes submetidos à cirurgia de troca valvar.

Parâmetros	Tempos de coleta Creatinoquinase-MB (U/L)											
	N	Indução	P*	N	Após 3 horas	P*	N	Após 6 horas	P*	N	Após 12 horas	P*
Demográficos												
Idade	30	0,224	0,233 ^a	30	0,110	0,563 ^a	30	0,281	0,133 ^a	28	0,201	0,306 ^a
Homens	17	6,0 (3,0-12,0)	0,781	17	31,0 (21,5-74,0)	0,357	17	30,0 (22,0-71,5)	0,544	16	23,5 (16,0-50,5)	0,443
Mulheres	13	6,0 (3,5-12,0)		13	44,0 (32,0-53,0)		13	34,0 (31,5-48,5)		12	31,0 (23,0-39,8)	
Pré-operatórios												
Fração de ejeção												
> 40%	27	6,0 (3,0-12,0)	0,323	27	41,0 (30,0-67,0)	0,012	27	35,0 (28,0-59,0)	0,011	25	29,0 (22,5-48,0)	0,019
≤ 40%	3	3,0 (3,0-§)		3	20,0-8,0-§)		3	15,0 (12,0-§)		3	16,0 (5,0-§)	
Sem IRC	24	5,5 (3,0-9,5)	0,213	24	42,5 (30,3-64,3)	0,097	24	34,5 (28,5-57,8)	0,114	22	27,5 (22,0-47,5)	0,287
Com IRC	6	11,0 (4,5-13,3)		6	21,5 (15,5-74,0)		6	21,0 (14,3-84,8)		6	20,5 (12,5-71,3)	
Sem DM	21	4,0 (3,0-11,0)	0,188	21	33,0 (22,5-47,0)	0,239	21	34,0 (22,5-48,5)	0,189	20	25,5 (16,8-39,8)	0,252
Com DM	9	8,0 (5,0-13,0)		9	45,0 (30,5-123,0)		9	35,0 (31,0-114,0)		8	27,0 (23,0-56,8)	
Sem IAM prévio	30	6,0 (3,0-12,0)	§	30	34,5 (23,0-58,8)	§	30	34,0 (23,8-55,3)	§	28	25,5 (21,3-42,3)	§
Com IAM prévio	0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)	
Sem IAM recente	30	6,0 (3,0-12,0)	§	30	34,5 (23,0-58,8)	§	30	34,0 (23,8-55,3)	§	28	25,5(21,3-45,3)	§
Com IAM recente	0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)	
Transoperatórios												
Tempo de CEC												
< 90 min	12	5,0 (3,0-13,0)	0,559	12	32,5 (23,0-68,0)	0,767	12	31,5 (24,8-63,8)	0,597	11	23,0 (21,0-47,0)	0,706
≥ 90 min	18	6,0 (3,0-12,0)		18	42,5 (22,8-58,8)		18	35,5 (22,8-55,3)		17	29,0 (20,5-45,0)	
Tempo pinçamento												
< 40 min	0	0,0 (0,0-0,0)	§	0	0,0 (0,0-0,0)	§	0	0,0 (0,0-0,0)	§	0	0,0 (0,0-0,0)	§
≥ 40 min	30	6,0 (3,0-12,0)		30	34,5 (23,0-58,8)		30	34,0 (23,8-34,0)		28	25,5 (21,3-45,3)	
Sem balão intra-aórtico	30	6,0 (3,0-12,0)	§	30	34,5 (23,0-58,8)	§	30	34,0 (23,8-55,3)	§	28	25,5 (21,3-45,3)	§
Com balão intra-	0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)	

Apêndices

aórtico												
Pós-operatórios												
Sem AVC	27	6,0 (3,0-12,0)	0,860	27	36,0 (23,0-56,0)	0,703	27	34,0 (24,0-54,0)	0,678	25	26,0 (21,5-43,5)	0,710
Com AVC	3	6,0 (3,0-§)		3	30,0 (21,0-§)		3	30,0 (22,0-§)		3	22,0 (19,0-§)	
Sem IRA	25	6,0 (3,0-11,0)	0,712	25	33,0 (22,5-47,5)	0,200	25	33,0 (22,5-50,0)	0,101	23	25,0 (19,0-40,0)	0,105
Com IRA	5	5,0 (3,5-15,0)		5	56,0 (31,5-127,5)		5	51,0 (33,5-149,5)		5	36,0 (26,0-128,5)	
Sem IAM	29	6,0 (3,0-11,0)	0,140	29	33,0 (23,0-53,0)	0,326	29	34,0 (23,5-52,5)	0,272	27	25,0 (21,0-40,0)	0,154
Com IAM	1	16,0 (16,0-16,0)		1	67,0 (67,0-67,0)		1	71,0 (71,0-71,0)		2	59,0 (59,0-59,0)	
Sem mediastinite	27	6,0 (3,0-12,0)	0,120	27	36,0 (23,0-56,0)	0,972	27	34,0 (24,0-54,0)	0,678	25	25,0 (21,5-43,5)	0,603
Com mediastinite	3	3,0 (3,0-§)		3	31,0 (21,0-§)		3	35,0 (22,0-§)		3	29,0 (19,0-§)	
Permanência hospital												
Pós-cirurgia	29	-0,150	0,439 ^a	29	-0,040	0,836 ^a	29	0,007	0,970 ^a	27	-0,191	0,340 ^a
Sem óbito	27	6,0 (3,0-12,0)	0,258	27	33,0 (23,0-50,0)	0,226	27	33,0 (23,0-54,0)	0,120	25	25,0 (20,0-43,5)	0,158
Com óbito	3	4,0 (3,0-§)		3	56,0 (31,0-§)		3	51,0 (35,0-§)		3	36,0 (29,0-§)	

*Teste Mann-Whitney; a: Teste Correlação de Spearman. Os dados estão apresentados por mediana e intervalo interquartil; IRC: insuficiência renal crônica; DM: diabetes mellitus; IAM: infarto agudo do miocárdio; CEC: Circulação extracorpórea; AVC: acidente vascular cerebral; IRA: insuficiência renal aguda. § sem dados para cálculo.

Tabela 9. Comparação e correlação das medianas da Troponina I (pg/mL) com as variáveis perioperatórias nos pacientes submetidos à CRM.

Parâmetros	Tempos de coleta Troponina I (pg/mL)											
	N	Indução	P*	N	Após 6 horas	P*	N	Após 12 horas	P*	N	Após 24 horas	P*
Demográficos												
Idade	85	0,021	0,849 ^a	84	0,249	0,022^a	85	0,163	0,135 ^a	83	0,221	0,045 ^a
Homens	59	11,8 (4,7-50,1)	0,726	58	3166,3 (2029,8-4654,5)	0,389	59	3418,6 *1862,8-6603,0)	0,281	58	1700,5 (918,9-5026,1)	0,433
Mulheres	26	13,5 (5,2-35,4)		26	2571,0 (1868,7-4546,9)		26	2608,6 (1469,6-6161,8)		25	1345,3 (763,0-6016,5)	
Pré-operatórios												
Fração de ejeção												
> 40%	63	9,7 (4,7-27,1)	0,009	65	3062,2 (1969,2-4517,1)	0,973	65	2788,3 (1538,6-5817,3)	0,662	63	1613,5 (818,4-5418,9)	0,926
≤ 40%	14	20,6 (14,5-56,6)		13	2598,1 (2090,6-4399,2)		14	3158,3 (2068,0-7079,1)		14	1642,9 (1056,9-4694,8)	
Sem IRC	56	11,6 (4,8-26,6)	0,437	57	2841,2 (1894,0-4130,3)	0,274	57	2684,6 (1538,6-4964,1)	0,186	55	1472,5 (818,4-4355,9)	0,276
Com IRC	22	14,5 (5,5-58,0)		22	3759,3 (2133,5-4860,6)		23	4194,8 (2042,1-7132,9)		23	2407,6 (917,3-6183,8)	
Sem DM	41	9,7 (4,7-19,2)	0,040	42	2900,0 (2037,1-4488,6)	0,891	42	2744,1 (1513,1-6425,8)	0,696	41	1654,3 (809,3-5701,0)	0,737
Com DM	37	19,4 (7,3-58,1)		37	3134,0 (1752,4-4702,8)		38	3311,2 (1749,1-6073,8)		37	1613,5 (924,6-5539,5)	
Sem IAM prévio	32	6,7 (4,7-12,9)	<0,001	33	3370,5 (2182,5-4897,0)	0,047	33	3896,5 (2105,2-6617,2)	0,077	32	1913,1 (1077,1-5153,2)	0,355
Com IAM prévio	46	20,6 (8,2-73,4)		46	2511,7 (1748,6-4210,2)		47	2570,3 (1465,7-5752,4)		46	1486,5 (738,6-6202,6)	
Sem IAM recente	38	8,1 (4,7-13,4)	<0,001	39	3062,2 (2096,0-4807,5)	0,303	39	3184,5 (2042,1-6190,1)	0,268	38	1675,8 (985,2-4621,7)	0,522
Com IAM recente	40	24,7 (7,8-120,0)		40	2718,5 (1711,0-4499,4)		41	2699,9 (1469,9-6373,4)		40	1486,5 (721,2-6508,1)	
Transoperatórioss												
Tempo de CEC												
< 90 min	57	13,7 (4,9-42,1)	0,847	59	2958,6 (1970,2-4344,0)	0,497	59	2700,0 (1800,0-4710,6)	0,167	57	1596,5 (830,9-3052,6)	0,061
≥ 90 min	26	12,4 (4,7-47,3)		25	3920,9 (1948,0-5312,1)		26	4436,6 (1492,1-8260,0)		26	4110,0 (727,7-9037,4)	
Tempo pinçamento												
< 40 min	22	14,6 (5,1-79,4)	0,560	24	2539,5 (1745,0-4346,9)	0,322	24	2635,1 (1494,2-6793,3)	0,476	23	1112,1 (828,5-4355,9)	0,483
≥ 40 min	61	11,7 (4,7-40,7)		60	3024,1 (2040,6-4829,1)		61	3203,8 (1808,9-6235,3)		60	1722,0 (830,0-6033,2)	

Apêndices

Sem balão intra-aórtico	68	10,2 (4,7-27,1)		69	3062,2 (1983,1-4529,0)		70	3000,6 (1739,9-5948,3)		68	1612,7 (829,7-5288,00)	
Com balão intra-aórtico	10	20,2 (14,7-1120,5)	0,010	10	2704,1 (1954,2-6445,5)	0,894	10	3067,2 (1423,6-8469,4)	0,942	10	1810,5 (871,7-6303,1)	0,964
Pós-operatórios												
Sem AVC	73	13,5 (4,9-40,7)		74	2839,8 (1969,7-4488,6)		75	2869,1 (1559,9-5767,0)		735	1613,5 (830,9-4625,6)	
Com AVC	5	10,3 (6,2-191,1)	0,774	5	4344,0 (2713,1-5733,7)	0,268	5	7044,3 (2833,6-29896,1)	0,121		8061,8 (1062,3-31351,7)	0,199
Sem IRA	63	10,1 (4,7-26,9)		65	2841,2 (1983,1-4402,0)		65	2688,2 (1559,7-5364,6)		63	1472,5 (800,2-4021,4)	
Com IRA	15	15,2 (10,4-128,4)	0,041	14	4054,8 (1912,9-5128,8)	0,464	15	3896,5 (3132,1-9792,1)	0,109	15	4198,5 (1746,7-8570,4)	0,010
Sem IAM	72	13,6 (5,2-43,9)		73	2841,2 (1969,2-4586,1)		74	2828,7 (1559,8-5170,6)		73	1611,8 (830,9-4277,2)	
Com IAM	6	7,1 (4,7-19,7)	0,192	6	3453,4 (1843,9-15214,9)	0,711	6	13650,6 (6098,9-50000,0)	0,012	5	32247,6(14117,3-50000,0)	0,017
Sem mediastinite	74	12,9 (5,2-37,5)		75	2985,9 (1995,9-4598,0)		75	3132,1 (1805,6-6190,1)		73	1654,3 (901,2-5701,0)	
Com mediastinite	4	8,9 (4,7-96,0)	0,508	4	1946,6 (1727,8-2879,)	0,146	5	1517,8 (1139,1-5558,8)	0,306	5	833,3 (672,1-6284,8)	0,561
Permanência hospital												
Pós-operatório	78	0,094	0,415 ^a	79	0,215	0,057 ^a	80	0,276	0,013^a	78	0,309	0,006^a
Sem óbito	72	11,6 (4,8-27,1)		73	2985,9 (1941,3-4517,1)		73	2869,1 (1679,9-5817,3)		71	1602,8 (818,4-4355,9)	
Com óbito	6	35,8 (10,4-109,2)	0,317	6	2450,7 (2101,5-4961,7)	1,000	7	5752,4 (1266,6-7221,1)	0,534	7	6049,9 (1746,7-15175,4)	0,033

*Teste Mann-Whitney; a: Teste Correlação de Spearman. Os dados estão apresentados por mediana e intervalo interquartil; IRC: insuficiência renal crônica; DM: diabetes mellitus; IAM: infarto agudo do miocárdio; CEC: Circulação extracorpórea; AVC: acidente vascular cerebral; IRA: insuficiência renal aguda.

Tabela 10. Comparação e correlação entre as medianas da Troponina I (pg/mL) com as variáveis perioperatórias nos pacientes submetidos à cirurgia de troca valvar.

Parâmetros	Tempos de coleta Troponina I (pg/mL)											
	N	Indução	P*	N	Após 6 horas	P*	N	Após 12 horas	P*	N	Após 24 horas	P*
Demográficos												
Idade	30	0,327	0,078 ^a	27	0,224	0,262 ^a	27	0,138	0,492 ^a	29	0,124	0,523 ^a
Homens	17	8,6 (4,7-41,4)	0,750	15	3284,0 (1789,4-7899,5)	0,380	15	3230,9 (1664,5-5894,8)	0,223	16	2601,9 (996,0-5004,5)	0,630
Mulheres	13	12,3 (5,5-34,6)		12	4006,4 (2949,1-6401,3)		12	5061,4 (3016,4-6708,6)		13	2903,0 (2264,4-3309,7)	
Pré-operatórios												
Fração de ejeção												
> 40%	27	7,2 (4,7-30,0)	0,344	24	3513,9 (2426,7-6401,2)	0,939	243	3870,7 (2322,4-6499,6)	1,000	26	2795,9 (1596,1-3643,0)	1,000
≤ 40%	3	22,3 (8,6-§)		3	4218,9 (757,3-§)		3	5003,3 (1044,6-§)		3	2955,3 (705,2-§)	
Sem IRC	24	6,9 (4,7-29,6)	0,227	22	3420,4 (2398,2-7386,4)	0,574	22	4562,4 (2248,9-6934,3)	0,417	24	2795,9 (1574,4-2795,9)	0,729
Com IRC	6	23,4 (7,6-108,1)		5	3743,7 (2020,7-4496,1)		5	3735,9 (2137,8-4687,7)		5	2955,3 (1175,3-3401,1)	
Sem DM	21	12,6 (4,7-40,8)	0,477	20	3768,8 (2426,7-7728,5)	0,543	20	4504,4 (2478,8-7373,4)	0,400	21	2795,5 (1515,6-4591,0)	0,733
Com DM	9	5,8 (4,7-29,2)		7	3030,7 (2325,4-5590,3)		7	2970,6 (1597,7-3550,4)		8	2970,6 (1597,7-3550,4)	
Sem IAM prévio	30	10,5 (4,7-32,7)	§	27	3743,7 (2422,5-6404,7)	§	27	4005,4 (2305,4-6690,1)	§	29	2796,2 (1546,9-3683,4)	§
Com IAM prévio	0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)	
Sem IAM recente	30	10,5 (4,7-32,7)	§	27	3743,7 (2422,5-6404,7)	§	27	4005,4 (2305,4-6690,1)	§	29	2796,2 (1546,9-3683,4)	§
Com IAM recente	0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)	
Transoperatórios												
Tempo de CEC												
< 90 min	12	9,35 (4,7-27,9)	0,345	12	3412,3 (2426,7-6179,2)	0,733	11	3679,2 (2373,2-5894,8)	0,587	12	2601,5 (1401,4-2915,5)	0,101
≥ 90 min	18	10,6 (5,1-57,3)		15	3743,7 (2325,4-7215,4)		16	4188,7 (2032,5-8030,7)		17	3040,5 (1845,7-7501,5)	
Tempo pinçamento												
< 40 min	0	0,0 (0,0-0,0)	§	0	0,0 (0,0-0,0)	§	0	0,0 (0,0-0,0)	§	0	0,0 (0,0-0,0)	§
≥ 40 min	30	10,5 (4,7-32,7)		27	3743,7 (2422,5-6404,7)		27	4005,4 (2305,4-6690,1)		29	2796,2 (1546,9)	
Sem balão intra-aórtico	30	10,5 (4,7-32,7)	§	27	3743,7 (2422,5-6404,7)	§	27	4005,4 (2305,4-6690,1)	§	29	2796,2 (1546,9-3683,4)	§
Com balão intra-aórtico	0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)	
Pós-operatórios												
Sem AVC	27	12,3 (4,7-30,0)	0,752	24	3513,9 (2426,7-6201,1)	0,537	24	3870,7 (2322,4-5919,8)	0,589	26	2795,9 (1596,1-3643,0)	0,720
Com AVC	3	5,8 (4,7-§)		3	6390,8 (2325,4-§)		3	6690,1 (1664,5-§)		3	3393,6 (866,1-§)	

Apêndices

Sem IRA	25	8,6 (4,7-35,4)	0,592	23	3743,7 (2422,5-6404,7)	0,733	23	4005,4 (2079,5-6690,1)	0,682	25	2796,2 (1515,6-3578,8)	0,752
Com IRA	5	12,6 (6,0-74,2)		4	4310,5 (2099,7-14833,8)		4	4444,8 (2648,9-10225,7)		4	2824,4 (1597,7-7341,3)	
Sem IAM	29	12,3 (4,7-35,4)	0,861	26	3513,9 (2398,2-6607,4)	0,521	26	3870,7 (2248,9-6696,3)	0,608	28	2795,9 (1497,6-3671,4)	0,403
Com IAM	1	7,2 (7,20-7,2)		1	5590,3 (5590,3-5590,3)		1	5210,3 (5210,3-5210,3)		1	3602,7 (3602,7-3602,7)	
Sem mediastinite	27	8,6 (4,7-28,3)	0,344	25	3743,7 (2430,8-6397,8)	1,000	25	4005,4 (2226,4-6309,1)	0,781	27	2796,2 (1448,3-3602,7)	0,667
Com mediastinite	3	52,7 (4,7-§)		2	5184,5 (1789,4-§)		2	5387,4 (2305,4-§)		2	4230,7 (2046,0-§)	
Permanência hospital												
Pós-operatório	29	0,099	0,610 ^a	27	-0,262	0,187 ^a	26	-0,285	0,158 ^a	28	-0,048	0,807 ^a
Sem óbito	27	8,6 (4,7-30,0)	0,752	25	3743,7 (2430,8-6397,8)	0,781	25	4005,4 (2226,4-6309,1)	0,711	27	2796,2 (1448,3-3602,7)	0,606
Com óbito	3	12,6 (4,7-§)		2	7101,5 (2305,4-§)		2	7101,5 (2305,4-§)		2	5316,8 (2046,0-§)	

*Teste Mann-Whitney; a: Teste Correlação de Spearman. Os dados estão apresentados por mediana e intervalo interquartil; IRC: insuficiência renal crônica; DM: diabetes mellitus; IAM: infarto agudo do miocárdio; CEC: Circulação extracorpórea; AVC: acidente vascular cerebral; IRA: insuficiência renal aguda. § sem dados para cálculo.

Tabela 11. Comparação e correlação das medianas do Lactato (mmol/L) com as variáveis perioperatórias nos pacientes submetidos à CRM.

Parâmetros	Tempos de coleta Lactato (mmol/L)											
	N	Indução	P*	N	Após 3 horas	P*	N	Após 6 horas	P*	N	Após 12 horas	P*
Demográficos												
Idade	85	0,171	0,120 ^a	84	0,089	0,422 ^a	84	0,116	0,293 ^a	84	0,337	0,002^a
Homens	59	1,3 (1,1-1,7)	0,123	58	1,9 (1,6-2,9)	0,249	58	2,5 (1,7-4,0)	0,706	58	2,6 (1,7-4,4)	0,552
Mulheres	26	1,2 (1,0-1,5)		26	1,8 (1,3-2,4)		26	2,2 (1,5-4,0)		26		
Pré-operatórios												
Fração de ejeção												
> 40%	64	1,3 (1,1-1,7)	0,162	64	2,0 (1,6-3,0)	0,009	65	2,8 (1,7-4,5)	0,010	64	3,2 (1,7-5,1)	0,005
≤ 40%	14	1,1 (1,0-1,5)		14	1,5 (1,1-2,0)		14	1,8 (1,4-2,2)		14	1,6 (1,1-2,5)	
Sem IRC	57	1,3 (1,1-1,8)	0,014	56	2,1 (1,5-3,0)	0,344	57	2,6 (1,6-4,1)	0,503	57	2,9 (1,6-4,7)	0,319
Com IRC	22	1,1 (1,0-1,4)		23	1,8 (1,6-2,4)		23	1,9 (1,7-3,9)		22	2,2 (1,4-4,1)	
Sem DM	42	1,4 (1,1-1,7)	0,157	42	2,0 (1,6-3,0)	0,348	42	2,9 (1,7-4,7)	0,095	41	2,9 (1,8-5,2)	0,120
Com DM	37	1,2 (1,0-1,7)		37	1,8 (1,5-2,7)		38	2,2 (1,3-3,4)		38	2,4 (1,3-4,2)	
Sem IAM prévio	33	1,2 (1,0-1,6)	0,128	33	1,9 (1,4-3,1)	0,661	33	2,4 (1,5-4,3)	0,899	33	2,4 (1,6-4,9)	0,897
Com IAM prévio	46	1,3 (1,1-1,8)		46	2,0 (1,6-2,8)		47	2,4 (1,7-3,7)		46	2,9 (1,4-4,4)	
Sem IAM recente	39	1,2 (1,0-1,6)	0,036	39	2,0 (1,5-3,0)	0,702	39	2,4 (1,7-4,2)	0,769	38	2,6 (1,6-4,8)	0,840
Com IAM recente	40	1,3 (1,1-1,8)		40	1,8 (1,5-2,4)		41	2,4 (1,7-4,2)		41	2,9 (1,4-4,5)	
Transoperatórios												
Tempo de CEC												
< 90 min	58	1,3 (1,1-1,7)	0,051	58	1,8 (1,5-2,8)	0,350	59	2,6 (1,5-3,9)	0,833	58	2,8 (1,4-4,4)	0,272
≥ 90 min	26	1,2 (1,0-1,6)		26	2,0 (1,6-3,1)		25	2,1 (1,8-4,1)		26	2,4 (1,7-6,2)	
Tempo pinçamento												
< 40 min	24	1,5 (1,1-1,6)	0,178	24	1,8 (1,5-2,1)	0,071	24	2,5 (1,6-3,8)	0,582	23	2,4 (1,3-4,4)	0,501
≥ 40 min	60	1,2 (1,0-1,7)		60	2,0 (1,5-3,0)		60	2,4 (1,7-4,1)		61	2,7 (1,6-4,9)	
Sem balão intra-aórtico	69	1,3 (1,1-1,7)	0,473	69	2,0 (1,6-3,0)	0,087	70	2,7 (1,7-4,3)	0,221	69	3,0 (1,6-5,0)	0,053
Com balão intra-aórtico	10	1,2 (1,0-1,5)		10	1,8 (1,2-2,1)		10	1,9 (1,7-2,6)		10	1,7 (1,3-2,9)	

Apêndices

Pós-operatórios												
Sem AVC	74	1,3 (1,1-1,6)	0,396	74	1,9 (1,5-2,8)	0,318	75	2,2 (1,7-3,7)	0,107	74	2,8 (1,5-4,4)	0,444
Com AVC	5	1,5 (1,1-2,3)		5	3,5 (1,3-4,1)		5	5,1 (2,7-8,0)		5	5,6 (1,3-10,0)	
Sem IRA	64	1,3 (1,1-1,7)	0,418	64	1,8 (1,5-2,8)	0,285	65	2,2 (1,7-3,8)	0,286	64	2,6 (1,5-4,4)	0,245
Com IRA	15	1,1 (1,1-1,6)		15	2,3 (1,4-4,4)		15	3,3 (1,7-6,5)		15	4,3 (1,4-8,1)	
Sem IAM	73	1,3 (1,1-1,6)	0,521	73	1,9 (1,5-2,9)	0,431	74	2,4 (1,7-3,9)	0,565	73	2,8 (1,5-4,5)	0,572
Com IAM	6	1,5 (1,1-1,9)		6	2,1 (1,7-3,6)		6	2,8 (1,7-6,1)		6	3,1 (1,5-11,5)	
Sem mediastinite	74	1,3 (1,1-1,7)	0,221	74	2,0 (1,6-2,9)	0,259	75	2,2 (1,7-4,1)	0,261	75	2,5 (1,4-4,5)	0,100
Com mediastinite	5	1,1 (0,9-1,4)		5	1,7 (1,5-1,9)		5	3,3 (2,6-3,8)		4	4,5 (3,4-7,3)	
Permanência hospital												
Pós-operatório	79	-0,078	0,492 ^a	79	-0,049	0,670 ^a	80	0,025	0,823 ^a	79	-0,029	0,797 ^a
Sem óbito	72	1,3 (1,1-1,7)	0,556	72	1,9 (1,5-2,9)	0,904	73	2,2 (1,7-3,9)	0,287	73	2,5 (1,5-4,4)	0,036
Com óbito	7	1,4 (1,1-2,0)		7	2,0 (1,5-2,3)		7	3,3 (2,4-4,8)		6	7,4 (3,5-10,5)	

*Teste Mann-Whitney; a: Teste Correlação de Spearman. Os dados estão apresentados por mediana e intervalo interquartil; IRC: insuficiência renal crônica; DM: diabetes mellitus; IAM: infarto agudo do miocárdio; CEC: Circulação extracorpórea; AVC: acidente vascular cerebral; IRA: insuficiência renal aguda.

Tabela 12. Comparação e correlação das medianas do Lactato (mmol/L) com as variáveis perioperatórias nos pacientes submetidos à cirurgia de troca valvar.

Parâmetros	Tempos de coleta Lactato (mmol/L)											
	N	Indução	P*	N	Após 3 horas	P*	N	Após 6 horas	P*	N	Após 12 horas	P*
Demográficos												
Idade	30	-0,205	0,278 ^a	30	-0,291	0,119 ^a	29	-0,243	0,203 ^a	29	0,008	0,966 ^a
Homens	17	1,2 (1,0-1,5)	0,966	17	2,9 (2,0-4,5)	0,068	17	3,0 (1,8-5,4)	0,115	17	3,0 (2,3-4,8)	0,258
Mulheres	13	1,20 (0,9-1,7)		13	1,9 (1,3-2,7)		12	2,0 (1,2-3,5)		12	2,2 (1,3-4,7)	
Pré-operatórios												
Fração de ejeção												
> 40%	27	1,2 (1,0-1,6)	0,126	27	2,6 (1,7-4,1)	0,007	26	3,0 (1,6-5,1)	0,282	26	2,6 (1,8-5,0)	0,430
≤ 40%	3	1,0 (0,8-§)		3	1,0 (1,0-§)		3	1,9 (1,3-§)		3	2,4 (1,2-§)	
Sem IRC	24	1,2 (1,0-1,6)	0,979	24	2,6 (1,6-4,0)	0,421	23	2,3 (1,4-4,8)	0,914	23	2,4 (1,6-5,0)	0,553
Com IRC	6	1,2 (1,0-1,7)		6	2,0 (1,2-3,7)		6	2,8 (1,9-3,7)		6	3,3 (2,2-4,1)	
Sem DM	21	1,2 (1,0-1,5)	0,425	21	2,4 (1,4-3,6)	0,181	20	2,3 (1,3-4,7)	0,171	20	2,6 (1,6-4,1)	0,509
Com DM	9	1,4 (1,1-1,6)		9	2,9 (2,4-4,3)		9	3,6 (2,0-6,7)		9	2,4 (1,9-7,2)	
Sem IAM prévio	30	1,2 (1,0-1,6)	§	30	2,6 (1,5-3,8)	§	29	2,5 (1,6-4,8)	§	29	2,5 (1,7-4,6)	§
Com IAM prévio	0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)	
Sem IAM recente	30	1,2 (1,0-1,6)	§	30	2,6 (1,5-3,8)	§	29	2,5 (1,6-4,8)	§	29	2,5 (1,7-4,6)	§
Com IAM recente	0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)		1	0,0 (0,0-0,0)		1	0,0 (0,0-0,0)	
Transoperatórios												
Tempo de CEC												
< 90 min	12	1,3 (1,0-1,6)	0,983	12	2,8 (1,4-4,6)	0,545	12	3,7 (1,5-6,1)	0,616	11	3,4 (1,8-5,1)	0,611
≥ 90 min	18	1,2 (1,0-1,6)		18	2,5 (1,5-3,4)		17	2,3 (1,6-3,6)		18	2,4 (1,6-4,0)	
Tempo pinçamento												
< 40 min	0	0,0 (0,0-0,0)	§	0	0,0 (0,0-0,0)	§	0	0,0 (0,0-0,0)	§	0	0,0 (0,0-0,0)	§
≥ 40 min	30	1,2 (1,0-1,6)		30	2,6 (1,5-3,8)		29	2,5 (1,6-4,8)		29	2,5 (1,7-4,6)	
Sem balão intra-aórtico	30	1,2 (1,0-1,6)	§	30	2,6 (1,5-3,8)	§	29	2,5 (1,6-4,8)	§	29	2,5 (1,7-4,6)	§
Com balão intra-aórtico	0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)		0	0,0 (0,0-0,0)	

Apêndices

Pós-operatórios												
Sem AVC	27	1,2 (1,0-1,6)	0,602	27	2,6 (1,5-4,1)	0,446	26	2,8 (1,6-5,1)	0,519	26	2,9 (1,8-5,0)	0,173
Com AVC	3	1,1 (1,0-§)		3	2,3 (1,0-§)		3	2,0 (1,3-§)		3	2,0 (1,2-§)	
Sem IRA	25	1,2 (1,0-1,6)	0,654	25	2,6 (1,5-3,7)	0,759	24	2,4 (1,7-4,7)	0,644	24	2,5 (1,7-3,8)	0,193
Com IRA	5	1,1 (0,9-§)		5	2,9 (1,5-§)		5	3,0 (1,4-§)		5	5,7 (1,7-§)	
Sem IAM	29	1,2 (1,0-1,6)	0,642	29	2,6 (1,5-3,5)	0,183	28	2,4 (1,5-4,7)	0,120	28	2,5 (1,7-4,1)	0,094
Com IAM	1	1,1 (1,1-1,1)		1	4,8 (4,8-4,8)		1	9,1 (9,19,1)		1	8,8 (8,8-8,8)	
Sem mediastinite	27	1,2 (1,0-1,6)	0,578	27	2,6 (1,5-4,1)	0,863	26	2,4 (1,6-4,8)	0,802	26	2,5 (1,8-4,0)	0,333
Com mediastinite	3	1,0 (1,0--§)		3	2,9 (1,0--§)		3	3,0 (1,3--§)		3	5,7 (1,2--§)	
Permanência hospital												
Pós-operatório	29	0,078	0,686 ^a	29	-0,222	0,246 ^a	29	-0,118	0,543 ^a	28	-0,059	0,764 ^a
Sem óbito	27	1,2 (1,0-1,6)	0,366	27	2,6 (1,4-4,1)	0,729	26	2,4 (1,6-4,8)	0,802	26	2,5 (1,8-4,0)	0,266
Com óbito	3	1,0 (0,8--§)		3	2,9 (1,6--§)		3	3,0 (1,3--§)		3	5,7 (1,6--§)	

*Teste Mann-Whitney; a: Teste Correlação de Spearman. Os dados estão apresentados por mediana e intervalo interquartil; IRC: insuficiência renal crônica; DM: Diabete mellitus; IAM: infarto agudo do miocárdio; CEC: Circulação extracorpórea; AVC: acidente vascular cerebral; IRA: insuficiência renal aguda. § sem dados para cálculo.

APÊNDICE 2 - ARTIGO ORIGINAL**Journal of Molecular and Cellular Cardiology****ISSN: 0022-2828****Impact Factor: 5.680****Evaluation of microRNAs Expression and Serum Levels of CK-MB, Troponin I and Lactate as Markers of Perioperative Events in Cardiac Surgery****Authors**

Piantá, Ricardo Medeiros^a; Marinowic, Daniel Rodrigo^b; Xavier, Fernando Antonio Costa^{b,c}; Martinez, Lorenzo Barbieri^b; Azevedo, Pamela^b; Rockenbach, Bruna Fagundes^d; Guaragna, João Carlos Vieira da Costa^a & Machado, Denise Cantarelli^{b,c,e}.

Affiliation

^aCardiovascular Surgery Department, Hospital São Lucas da PUCRS;

^b Brain Institute of Rio Grande do Sul (Brains)

^cGraduation Program on Medicine and Health Science, School of Medicine

^dSchool of Medicine

^eDepartment of Diagnostic Medicine, School of Medicine

Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul

Address: Av. Ipiranga, 6690 - Building 60,

Zip Code: 90610-000

City: Porto Alegre - RS – Brazil,

Phone number: 5551 3320.3015.

Corresponding author:

Ricardo Medeiros Piantá **e-mail:** r18pianta@gmail.com

Address:

Medical Center

Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul

Building 60, room:615

Av. Ipiranga, 6690 - Zip Code: 90610-000

City: Porto Alegre - RS – Brazil.

Abstract

Cardiovascular diseases are one of the most prevalent diseases worldwide and the main cause of mortality in Brazil. The most prevalent cardiovascular disorder are ischemic heart disease, stroke, heart failure and arterial systemic hypertension (ASH). The risk stratification for patients submitted to cardiac surgery comprehend pre operative risks, mainly. However, during intraoperative period several factors, including surgical technique, myocardial protection and cardiopulmonary bypass (CPB) may interfere in postoperative results. Thus, intraoperative monitoring and early intervention may improve cardiac surgery outcomes. The increase of serum biomarkers levels indicates myocardial lesion and even necrosis in subjects submitted to cardiac surgery. Therefore, this investigation aim to evaluate the profile of cardiac biomarkers such as CK-MB, troponin I and lactate in 115 subjects submitted to cardiac surgery and its relation with the outcome. It was analyzed the expression of miRNAs 1, 133a and 499 in leucocytes from peripheral blood samples from 24 individuals as well as the relation between the biochemical and molecular biomarkers. A correlation of miRNA-1 with troponin I ($r = 0.4893$, $P = 0.0025$) and lactate ($r = 0.5689$, $P = 0.0002$) was found, which pointed to the first evidence that a miRNA is related to the state of hypoperfusion and tissue oxygenation, monitored by serum lactate. These data will allow the potential of these complex nucleotides to be explored in future studies for the diagnosis, monitoring and therapy of the most diverse pathologies and cardiac surgeries.

Keywords: ischemic heart disease, valvular heart disease, biomarkers, microRNAs.

1. Introduction

Cardiovascular illnesses are one of the most prevalent diseases worldwide and the main cause of mortality in Brazil. They are responsible for 34% of the deaths in America. The most prevalent cardiovascular disorder are ischemic heart disease, stroke, heart failure and arterial systemic hypertension (ASH). The risk stratification for patients submitted to cardiac surgery comprehend pre operative risks, mainly. However, during intraoperative period several factors, including surgical technique, myocardial protection and cardiopulmonary bypass (CPB) may interfere in postoperative results. Thus, intraoperative monitoring and early intervention may improve cardiac surgery outcomes.

The increasing levels of serum biomarkers indicates myocardial lesion and even necrosis in subjects submitted to cardiac surgery, and its concentration may be related to an adverse outcome. Blood level of lactate can be used as a marker to assess adequate tissue perfusion, and troponin and creatinine kinase (CK-MB) are indicative of myocardium lesion or necrosis (1-7).

MicroRNAs (miRNAs), a class of endogenous, small (19-23 nucleotides) non-coding RNAs act as potent Ptranscriptional regulators of gene expression (8) whose functions are related to the regulation of various biological processes, including development, differentiation, proliferation and cellular apoptosis. The identification of perioperative myocardial injury markers, such as creatinine kinase-MB fraction (CK-MB) and troponin I, and its relation to serum levels of miRNAs, may provide a strategy for the early detection of myocardial injury and implementation of measures capable to minimize myocardial damage and optimizing the outcome of cardiac surgeries (9).

The miRNAs 1, 133a and 133b are specific to the muscular system and essential for the differentiation of the cardiac muscle. The miRNA-126 plays a prominent role in the process of angiogenesis during the development of the heart muscle. miRNA-499 controls the expression of genes related to the contractile function of cardiomyocytes. The miRNAs 1, 133a, and 499 are responsible for the differentiation of mesodermal precursors into mature cardiomyocytes, gene modulation that occurs in the heart when submitted to ischemia and reperfusion, and, in the long term, are involved in fibrosis and hypertrophy processes, (10, 11). There is evidence of a positive

correlation between serum levels of troponin I, and miRNA-1 serum and urinary levels (12). miRNA-499 expression is a potential predictor of AMI in the early hours of PO suggesting that the release of miRNAs, into the bloodstream, depends on myocyte rupture (13). Also, a positive correlation was detected between serum levels of troponin I and miRNA-1, suggesting that serum and urinary levels of miRNA-1 may be new biomarkers of myocardial injury in ECC cardiac surgeries (12). These findings were corroborated by a follow-up of 112 patients over 10 years that showed that the incorporation of 5 miRNAs into the Framingham risk score increased the AUC (area under curve) from 0.72 to 0.91 for the detection of AMI or death by coronary disease (14).

Therefore, the detection of lactate levels could reduce the risk of postoperative complications and even mortality in cardiac surgery (12), and the earlier identification of patients with this alterations associated with the determination of circulating levels of the related miRNAs, will allow as early intervention of therapeutic approach, preventing complications and improving postoperative results. Therefore, this study aim to verify if there is a relationship between miRNA expression levels 1, 133a and 499 with serum levels of troponin I, CK-MB and lactate in the peripheral blood of patients undergoing cardiac surgeries under extracorporeal circulation and if they are predictor of the perioperative outcomes.

2. Material and methods

2.1 Ethical issues

This research followed the ethical principles established in accordance with Resolution No. 466 of the Brazilian National Health Council of December 12, 2012. All subjects were over 18 years of age and provided informed consent approved by Research Ethics Committee of PUCRS (No. 1,312,544).

2.2 Patients

The study cohort consisted of 115 consecutive patients with ischemic heart disease and aortic and mitral valve disease that underwent surgical procedures at the Cardiovascular Surgery Department of the São Lucas Hospital of PUCRS between December 2015 and November 2016.

2.2.1 Inclusion and exclusion criteria

Patients over 18 years of age with ischemic or valve heart disease with surgical indication according to the guidelines of the Brazilian Society of Cardiology (15, 16), the European Society of Cardiology (17, 18) and the American Heart Association (19, 20) were included and patients who have undergone left ventricular aneurysmectomy or correction of congenital heart disease were excluded.

2.3 Samples collection

Four mL of peripheral blood were collected in the vacutainer tube without anticoagulant, at the anesthetic induction (T1), at 30 minutes after the onset of CPB (T2), at the rewarming (T3) of the patient (around 34°C), and at 1 h (T4), 3 h (T5), 6 h (T6), 12 h (T7), 24 h (T8) and 48 h (T9) post aortic declamping (PAD), to determine the serum levels of troponin I, CK-MB and lactate.

In order to determine the expression levels of miRNAs 1, 133a and 499, 4 mL of peripheral blood were collected in a vacutainer tube with EDTA at the same intervals described earlier. For this study, 2.070 samples were collected.

2.4 Study variables

2.4.1 Preoperative

Preoperative informations were as follows: age (average); sex (male and female); left ventricular ejection fraction (EF), divided for analysis in $\leq 40\%$ and $>40\%$ according to data obtained by echocardiography or radiocardiography; chronic kidney disease (CRD), diagnosed by serum creatinine level >1.5 m/dL according to the literature (21, 22); Diabetes mellitus (DM); acute or recent (up to 30 days before surgery) myocardial infarction (AMI) prior to CABG.

2.4.2 Operative

Time of cardiopulmonary bypass (CPB), values divided for analysis in <90 min and ≥ 90 min; clamping time of the aorta, dichotomized in <40 min and ≥ 40 min; the use of the intra-aortic balloon (BIA) in the OP of perioperative CABG (coronary artery bypass graft) and AMI. Serum levels of troponin I, CK-MB, lactate and miRNAs-1, 133a and 499, at different times of blood collection.

2.4.3 Postoperative

Cerebrovascular accident (CVA), acute renal failure, mediastinitis, length of hospital stay and hospital death.

2.5 Quantitation of CK-MB, lactate and Troponin I

Creatinine kinase MB fraction and lactate were measured in plasma using the dry chemistry method (Ortho Clinical Diagnostics VITROS 950™; Johnson & Johnson, New Brunswick, NJ, USA).

Troponin I levels were determined using the AxSYM Troponin I MEIAassay (Abbott Laboratories, Laboratories, Rungis, France).

2.6 Quantitation of serum expression levels of miRNAs

The miRNA extractions were performed using the ReliaPre miRNA Cell and Tissue Miniprep System kit (Promega Corporation) according to the manufacturer's instructions. The quantitation of total miRNAs was determined using a NanoDrop

(Thermo Scientific). The first strand cDNA was synthesized using TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit (Thermo Scientific) with specific primers for each target miRNA according to the manufacturer's instructions. 800 ng of miRNA was added to each reaction mix for the quantitative real-time PCR using the kit GoTaq Probe qPCR Master Mix (Promega) on a Step One Plus Real-Time PCR System thermal cycler (Thermo Scientific). The endogenous control was the miRNA U6, and the expression was normalized considering the miRNA U6 expression as 100%. TaqMan probes for miRNA1, miRNA133a e miRNA499. The conditions of the thermal cycler were 50°C for 2 min., 95°C for 10 min. and 45 cycles of 95°C for 15 sec. and 60°C for 1 min. For analyses data was utilized relative quantification $2^{-\Delta\Delta Ct}$ with rear statistical analyses using t Student test (software SPSS).

2.7 Statistical analysis

The data were stored in an Excel database and analyzed with the statistical package SPSS 21.0. Normal distribution of the continuous data was verified using the Kolmogorov-Smirnov test. The continuous variables with normal distribution were described by mean and standard deviation and the variables without parametric distribution were described with median and interquartile range. Categorical variables were presented by absolute and relative frequency. The comparison between quantitative variables was performed using Student's t-test and Mann-Whitney test and the association between categorical variables, using the Pearson's Chi-square test and Fisher's exact test. For the correlations, the Spearman correlation test was used. For the comparison between the groups and several moments of evaluation of the markers, the generalized equations model and Bonferroni Post Hoc test were used. Comparisons with $P < 0.05$ were considered significant.

3. Results

3.1 Preoperative, operative details and postoperative profile from patients with ischemic heart disease and valvular heart disease that underwent surgical procedures under cardiopulmonary bypass

The present study included 115 patients, constituted by 85 patients with ischemic heart disease and 30 patients with valvular heart disease (aortic: n=22 or mitral: n=8) and underwent surgery from December 2015 to November 2016 in the Cardiovascular Surgery Service at São Lucas Hospital of PUCRS. The mean age was 62 ± 10.7 years, ranging from 19 to 84 years. The male sex was predominant including 76 patients (66.1%). The demographic characteristics of the patients are described in Table 1.

Patients undergoing CABG showed, more frequently, unstable angina ($P=0.001$), Functional class I ($P<0.001$) than valvular heart disease patients, in whom the predominance was Class II ($P=0.004$) and Class functional III ($P<0.001$).

Patients who underwent CABG surgery presented, more frequently, HTN ($P=0.008$), previous AMI ($P<0.001$), and recent AMI ($P<0.001$) when compared to those who underwent valve replacement.

Table 2 shows the results corresponding to trans and postoperative variables according to the kind of surgery. CPB time ($P=0.014$) and aortic clamping time ($P<0.001$) were higher in patients who underwent valve surgery. The time of hospital stay, both preoperatively ($P=0.003$) and post ($P=0.001$), was also higher in patients who underwent valve replacement.

3.2 Serum levels of C-MB, troponin I and lactate in peripheral blood of patients submitted to cardiac surgery under cardiopulmonary bypass

Troponin I, CK-MB and lactate biomarkers were collected and evaluated at 09 time points and the averages obtained are shown in Tables 3 to 5. In the CABG group, among CK-MB measurements there were differences between T2 x T3, T3 x T4, T5 x T6, and between T8 x T9 ($P<0.001$). There was no difference between T1 x T2, T4 x T5, T6 x T7, and between T7 x T8 (Table 4).

In the valve replacement surgery group, CK-MB levels were distinct between T2 x T3, T3 x T4, and between T4 x T5 ($P < 0.001$). There was no difference in the other time points (Table 3).

Troponin I values, the CABG group presented a statistical difference, between T3 x T4, x T4 x T5 ($P < 0.001$). There was no difference in the other periods. In valve surgery, there was no difference in troponin expression between the time points (Table 4).

In the CABG group, lactate showed difference between T1 x T2, T3 x T4, T5 x T), and between T7 x T8 ($P < 0.001$). In valve replacement surgery, lactate levels presented differences between T1 x T2 time points, and between T3 x T4 (Table 5).

3.3 Relation between CK-MB, Troponin I and lactate serum levels concentrations with the perioperative variables from patients submitted to cardiac surgery under cardiopulmonary bypass

The biomarkers concentrations were compared with pre, trans and postoperative variables. In the CABG group, the median of CK-MB values at induction were higher in patients without recent AMI ($P = 0.046$). CPB time seems to be related to CK-MB at T7 ($P = 0.05$). Patients with perioperative AMI presented higher CK-MB at T6 ($P = 0.032$) and at T7 ($P = 0.001$). At induction (T1), CK-MB values were higher in patients who did not die ($P = 0.024$) (Supplementary Table 7). In patients who underwent valve replacement and who presented ejection fraction $> 40\%$, serum CK-MB levels were higher at T5 ($P = 0.012$), T6 ($P = 0.011$) and T7 ($P = 0.019$) PAD. (Supplementary Table 8).

Regarding troponin I levels, in the CABG group, patients with LVEF $\leq 40\%$ presented higher levels at the induction (T1). Also at that time, patients with DM presented higher troponin I values ($P = 0.040$), as well as patients with previous AMI ($P < 0.001$) and recent AMI ($P < 0.001$). Patients with ARI had higher troponin I values, both at induction ($P = 0.041$) and at T8 PAD ($P = 0.010$). Patients who presented perioperative AMI presented higher troponin I concentration at T7 ($P = 0.012$) and T8 PAD ($P = 0.017$). Patients with higher troponin I levels at T7 ($P = 0.013$) and T8 PAD ($P = 0.006$) had a longer post operatory hospitalization time. Finally, the mean values

obtained at T8 PAD were higher in patients who died ($P=0.033$). In the valvar group, the values obtained at T8 PAD presented a direct relation with the aortic clamping time ($P=0.011$). The other analyzes did not present a statistically significant difference or correlation (Supplementary Tables 9 and 10).

Regarding the lactate, higher serum levels at T5 ($P=0.009$), T6 ($P=0.010$) and T7 PAD ($P=0.005$) were observed in patients with the fraction of ejection $>40\%$. At induction, lactate levels were higher in patients without CRF ($P=0.014$) and with recent AMI ($P=0.036$). At T7 PAD, patients who died had higher lactate values ($P=0.036$). In the valvar group, lactate levels did not present a statistically significant difference or relation between the perioperative period and the analyzed variables (Tables 11 and 12 in the Appendix).

3.4 Profile of the relative expression of miRNAs-1, 133a and 499 in the peripheral blood leukocytes from patients undergoing cardiac surgery under cardiopulmonary bypass

Samples collected during anesthetic induction (T1), rewarming (T3), 1 hour (T4) and 6 hours (T6) after the aorta declamping (PAD) from 24 patients (14 CABG and 10 valvar) were selected to evaluate the mean of miRNAs expression levels.

It was detected an increase in mean of miRNA-1 expression, when compared to the control, of 20.7 times higher on T3, 7.74 times higher at T4 PAD, and 53.07 times higher in samples collected at T6 PAD. The comparative analysis between groups showed differences between the mean obtained on rewarming groups and T4 PAD ($P=0.002$) and between groups T4 and T6 PAD ($P=0.014$).

There was an increase in miRNA-133a expression of 5.3 times in T3, 7.8 times in T4 PAD and 2 times at T6 PAD, when compared to induction group. The relative expression of miRNA-499 increased 8.06 times at T3, 20.1 PAD. The comparative analysis between groups showed statistically significant differences between T3 groups and T4 PAD ($P=0.059$) and between groups at T4 and T6 PAD ($P=0.002$) (Figure 1).

4. Discussion

In the present study, CK-MB levels were elevated significantly up to 6 h PAD in the CABG group, but the peak occurred at 12 h PAD, a significant decrease was observed after 24 h PAD. In the valvar group, CK-MB levels increase significantly up to 3 h PAD, decreasing successively up to 48 h PAD. There are few reports in the literature describing CK-MB levels at all time points investigated in this study in the perioperative period of cardiac surgery. Yang et al identified the elevated expression of CK-MB at 1 h PAD and at 24 h post operatory of 15 patients who underwent valve replacement surgery, and it was performed at 04 different times (23). The elevation of CK-MB enzyme PCABG correlates with adverse events ($P=0.009$, $OR=1.56$) (24).

In our study, CK-MB levels increased at 12 h PAD for the CAGB group (40.12 ± 28.77 U / L) and at 3 h PAD in the valvar group (48.93 ± 7.26 U/L) did not show correlation with the occurrence of death, probably because the values of these collections did not exceed 5 times the normal reference value for the CK-MB serum levels utilized in the laboratory of biochemistry of Hospital São Lucas, which is <16 U/L.

In our study, there was no correlation between CPB time and aortic clamping time with CK-MB levels, which differs from the finding described by Costa et al (24), which showed the aortic clamping as an independent predictor of CK-MB elevation after CABG. Serum CK-MB levels were elevated at 6 h ($P = 0.032$) and 12 h (0.001) PAD in patients who presented perioperative AMI, reflecting irreversible myocardial damage.

The type of surgery also influences the release pattern of serum biomarkers, and mitral valve replacement surgery has higher expression values than other cardiac surgeries with CPB (25). Regarding CPB and aortic cross-clamping times, several studies have shown that aortic and mitral valve replacement surgeries have a longer duration when compared to CABG (25, 26). In our study, patients undergoing valve replacement had a CPB time (94.37 ± 22.68 min) higher than those submitted to CABG (81.89 ± 24.30 min), $P=0.014$. The aortic clamping time was also higher (73.37 ± 17.64 min) in the valve group than in the CABG group (51.54 ± 17.77 min), $P < 0.001$.

In our study, patients in both surgery groups had the most elevated troponin I levels at the same time point (12 h PAD; $5,353.31 \pm 843.19$ pg/mL) in the CABG group and $5,654.17 \pm 1,067.63$ pg/ml in the valve group). Moon et al included 218 patients to evaluate the influence of the persistent increasing in troponin I levels after CABG detected in 193 patients. The most elevated expression of troponin I levels at 12 h PO, while in the other 25 patients, elevated levels persisted after 24 h PO. Mastro et al identified that the troponin I expression in patients undergoing heart surgery (CABG and valvular) was 11.5 ± 8.6 hours (25, 27).

A study by Adabag et al including 1,186 patients (696 patients submitted to CABG and 490 to valve surgery) revealed that the highest values of troponin I were significantly associated with hospital mortality in both groups, with each elevation of 50 ng / mL in troponin I, mortality increases by 40% in the ischemic group and 30% in the valve group (28). Other studies also corroborate the association of elevated levels of troponin I, both in the preoperative period and 24h postoperatively, with increased mortality in patients undergoing CABG (5, 29).

The release of troponin I correlates positively with the NYHA functional class, in patients with high EuroSCORE and with prolonged duration of CPB and aortic clamping (25).

In the present study, some variables had a significant relationship with troponin I at the time of induction: higher levels in patients with ejection fraction $\leq 40\%$ ($P=0.009$), with DM ($P=0.040$) and with previous or recent AMI ($P<0.001$). Studies on troponin I changes in cardiac surgeries showed similar characteristics of the individuals included in our analyzes, except for the incidence of DM, which in the present study was higher (42.7%) compared to the literature (20-30%), (25, 26, 28).

Elevation of troponin I correlated significantly with the occurrence of acute renal failure ($P=0.010$) and perioperative AMI ($P=0.017$), as well as prolonging hospital admission ($P=0.006$) and increasing mortality ($P=0.033$) in patients undergoing CABG. Adabag et al studied patients undergoing cardiac surgery, both CABG and valvular, and confirmed the relationship of troponin I elevation with the occurrence of AMI and mortality, as well as prolonging ICU and hospital admission (28). Similar findings have been described in other studies (5, 26, 27, 29). In our valvular group, there was no such correlation, which may be explained by the fact

that the patients did not have previous or recent AMI, since preexisting coronary artery disease is, by itself, a factor that determines a higher probability of perioperative injury to myocardial tissue (25).

Risk stratification scores for patients undergoing cardiac surgeries (VA Risk Score and EuroScore) use only preoperative clinical variables; however, intraoperative factors may have a decisive influence on postoperative outcomes. The incorporation of preoperative and 24h PO of troponin I levels improves the prognostic power of the scores and helps to identify patients with greater risk of reintervention, cardiac arrest and longer stay in the ICU (28,29).

In this sense, efforts must be made to ensure that patients undergoing cardiac surgery have their baseline troponin checked, which in our study was 103.62 ± 29.54 pg/L in the CABG group and $29, 13.0 \pm 7.62$ pg/L in the valve group.

During cardiac surgery, CPB allows tissue perfusion and systemic oxygenation at the time the heart stops receiving a supply and is cooled to allow myocardial revascularization or valve replacement. During this period, the occurrence of tissue hypoperfusion is associated with lactic acidosis secondary to anaerobic metabolism. The measurement of serum lactate levels is a marker of adequate tissue perfusion (30).

At any time during the transoperative period (30 min CPB, patient rewarming and one hour PAD) there were serum levels higher than 4.0 mmol/L, which indicates that there was an adequate perfusion and tissue oxygenation. The collection times were based on aorta declamping, which is one of the main moment of great myocardial aggression, due to ischemia of reperfusion, and not the patient admission in the ICU. However, the serum levels at 6 h PAD reflect approximately the time of arrival in the ICU of 3 hours and in the group submitted to CABG the mean was 3.22 ± 0.27 mmol/L, while in the valve group the mean was 3.47 ± 0.45 mmol/L. Therefore, the lactate levels reflect that the parameters of adequate perfusion were maintained even in the ICU period.

In the present study, patients in the CABG group who presented recent AMI had higher lactate levels at induction ($P=0.036$). Lopez-Delgado et al demonstrated that both patients with previous AMI and those with recent AMI (up to 30 days before

CABG) presented levels of hyperlactatemia (>3.0 mmol/L) in the PO and recent AMI was characterized as independent predictor of lactate elevation in cardiac surgery (3).

Demers et al. showed that patients with LV ejection fraction $<30\%$ preoperatively had higher lactate levels during CPB (1). However, in our study, patients with LVEF $>40\%$ had higher levels at 3 h ($P=0.009$), 6 h ($P=0.010$) and 12 h ($P=0.005$) PAD, which was also evidenced by Lopez- Delgado et al, they identified a higher preoperative EF than those who did not present hyperlactatemia among patients with lactate ≥ 3.0 mmol/L (3). The fact that patients with lower LVEF received greater attention due to the risk of major complications, including the use of the intraaortic balloon (protective factor according to a study published with $OR=0.43$ (0.252-0.735), $P=0.002$, which improves coronary perfusion, may have been decisive in preventing elevation of lactate levels (3).

CPB and aortic clamping times were not related to elevated serum lactate levels, which differs from other studies that have demonstrated that longer CPB increases lactate levels. However, the mean of CPB time in these studies, 101.3 ± 52.8 min (1), 109 ± 36 min (2) and 121 ± 46 min (3) was higher than our result, $85,15 \pm 24.41$ min, which may have contributed to a lower infusion injury to the patients and consequently to minimize the elevation of serum lactate levels.

Interestingly, patients submitted to CABG and who presented higher levels of lactate at 12 h PAD died ($P=0.036$). This is corroborated by Hajjar et al, who evidenced that elevated lactate levels >2.0 mmol/L and 12 h PO were a predictor of mortality, as described by Lopez-Delgado et al, who showed that lactate levels >3.0 mmol/L at any time (ICU admission, 6 h, 12 h and 24 h PO) were predictors of hospital and long-term mortality (2,3).

The identification of elevated lactate levels is essential during cardiac surgery, considering the impact on the increase in complications and PO mortality. The strategy of hemodynamic optimization of patients using other parameters such as cardiac index, calculation of the oxygen released to the tissues and the evaluation of central venous oxygen saturation are resources to detect early hyperlactatemia and to correct any changes (1-3).

In our study, miRNA-1 presented a higher elevation of its circulating levels at 6 h PAD (53.07 times compared to control). During rewarming (34 °C), the levels had already risen, evidencing that the myocardial lesion responsible for the release of miRNA-1 occurs with a greater precocity than the one demonstrated by the study described above, which only showed it at the end of CPB. After evaluating 15 patients submitted to valve surgery, Yang et al confirmed the elevation of miRNA-1 at 45 minutes after aortic clamping and 1 h after PAD (23). These elevations in miRNA-1 expression are attributed to myocardial ischemia, while the aorta is clamped and the heart is excluded from receiving blood to allow distal coronary anastomoses to be performed in CABG or aortic or mitral valve replacement, but also due to reperfusion of myocardial ischemic tissue, when the aorta is unclamped (31).

Yao et al studying 120 patients who underwent CABG with CPB identified increased levels of miRNA-499 at 1 h, 3 h and 6 h PAD, returning to the control value in 48 h PAD. In our study, miRNA-499 levels showed a small increase in rewarming (8.06 times). Between the rewarming time points (34 °C) and 1 h PAD there was an increase in miRNA-499 expression with statistically significant difference. The highest expression of miRNA-499 was obtained at 1 h PAD (20.1 times in relation to the control), which represents the moment of greatest insult to myocardial tissue, probably due to reperfusion of the ischemic tissue. The collections performed at the time of rewarming (34°C nasopharyngeal temperature), which in some cases have already coincided with the aortic declamping, and have already reflected some degree of injury to myocardial tissue due to ischemia itself generated by the aortic clamping, inflammatory response to CPB, cardioplegia and hypothermia.

Another study that evaluated the behavior of miRNA-499 expression at four periods of valve surgery, identified only a reduction in expression levels with 24 h PO, and did not identify changes during the operative period (45 min after aortic clamping and 1 h PAD) (23). In our study, there was also a reduction in the expression of miRNA-499 between 1 h and 6 h PAD (P=0.002), which may reflect the fact that its release is less influenced by reperfusion injury.

Interestingly, at this time (patient rewarming) of tissue injury during cardiac surgery with CPB and the fact that it detected earlier changes than other studies,

which only evaluated the circulating levels of miRNAs at 1 h PAD, reflect that damage to myocardial tissue happens earlier than previously known.

In a more recent study, Emanuelli et al evaluated the expression of miRNAs-1, 24, 133 a/b, 208 a/b, which is related to cardiac tissue and miRNA-122, unrelated to the cardiovascular system and evidenced elevations in miRNAs-1, 133a and 133b at 24 h and 48 h after performing CABG with CPB. The analyzed time points in this study were pre-anesthetic induction, intraoperatively (before onset of CPB) and 24 h and 48 h PO (3). Therefore, there was no correlation with the time of declamping of the aorta.

Our findings regarding miRNA-133a expression showed a small increase in three time points in relation to the control. This miRNA was the one that presented the lowest mean of expression between the perioperative periods with a decrease at 6 h PAD in relation to the 1 h PAD, similar to that described by Yao et al (13).

Correlations between miRNAs and biochemical markers were found between miRNA-1 and troponin I ($r=0.4893$, $P=0,0025$), which is supported by previous studies (12, 23, 32) and myocardial tissue injury caused by the manipulation of the heart and by the CPB itself. In the Brazilian scenario, it is highlighted here for the first time this correlation and its potential for using it as a biomarker of myocardial injury in cardiac surgeries.

Yang et al. (23) showed a negative correlation between miRNA-499 and CK-MB and troponin I levels, there is no evidence to justify the expression of this miRNA by reperfusion injury of ischemic tissue. Our study also did not demonstrate correlation between the three biochemical markers with miRNA-499, probably because the lowest expression was found at 6 h PAD, and during this period the biochemical markers showed a tendency to elevation. Only an evidence in the literature positively correlated miRNA-499 with serum troponin I levels in a study including 117 patients and a 23.9% incidence of AMI (13).

The correlation of miRNA-1 with lactate ($r=0.5689$, $P=0.0002$) demonstrated for the first time that a miRNA is related to the state of hypoperfusion and tissue oxygenation, monitored by lactate levels. This evidence reveals novel horizons for studies to be carried out in order to establish their application in clinical practice.

The literature is poor about the impact of cardiac surgery on the release of miRNAs and the methodology for evaluating their expressions still lacks standardization, therefore our results suggest a possibility of reproducibility and also the reference thresholds for evaluation of a significant grade of injury to cardiac tissue. In addition, the impact on PO outcomes is limited to a single study, which correlated miRNA-499 with troponin I for earlier detection of AMI (13).

References

1. Demers P, Phane Elkouri S, Martineau R, Couturier A, Cartier R. Outcome With High Blood Lactate Levels During Cardiopulmonary Bypass in Adult Cardiac Operation. *Ann Thorac Surg*. 2000;70(0):2082–6.
 2. Hajjar LA, Almeida JP, Fukushima JT, Rhodes A, Vincent J-L, Osawa EA, et al. High lactate levels are predictors of major complications after cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* [Internet]. 2013;146(2):455–60. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022522313001530>
 3. Lopez-Delgado JC, Esteve F, Javierre C, Torrado H, Rodriguez-Castro D, Carrio ML, et al. Evaluation of Serial Arterial Lactate Levels as a Predictor of Hospital and Long-Term Mortality in Patients after Cardiac Surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* [Internet]. 2015;29(6):1441–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.jvca.2015.04.024>
 4. Piegas L, Timerman A, Feitosa G, Nicolau J, Mattos L, Andrade M, et al. V Diretriz Da Sociedade Brasileira De Cardiologia Sobre Tratamento Do Infarto Agudo Do Miocárdio Com Supradesnível Do Segmento St. *Arq Bras Cardiol*. 2015;105(2).
 5. Domanski MJ, Mahaffey K, Hasselblad V, Brener SJ, Smith PK, Hillis G, et al. Association of Myocardial Enzyme Elevation and Survival Following Coronary Artery Bypass Graft Surgery. *J Am Med Assoc*. 2011;305(6):585–91.
 6. Piegas L, Timerman A, Feitosa G, Nicolau J, Mattos L, Andrade M, et al. V Diretriz Da Sociedade Brasileira De Cardiologia Sobre Tratamento Do Infarto Agudo Do Miocárdio Com Supradesnível Do Segmento St. *Arq Bras Cardiol* [Internet]. 2015;105(2). Available from: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/abc.20150107>
 7. Nicolau J, Timerman A, Marin-Neto J, Piegas L, Barbosa C, Franci A. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Angina Instável e Infarto Agudo do Miocárdio sem Supradesnível do Segmento ST. *Arq Bras Cardiol*. 2014;102:1–61.
 8. Dong H, Lei J, Ding L, Wen Y, Ju H, Zhang X. MicroRNA: Function, detection, and bioanalysis. Vol. 113, *Chemical Reviews*. 2013. p. 6207–33.
-

9. Emanuelli C, Shearn AIU, Laftah A, Fiorentino F, Reeves BC, Beltrami C, et al. Coronary artery-bypass-graft surgery increases the plasma concentration of exosomes carrying a cargo of cardiac microRNAs: An example of exosome trafficking out of the human heart with potential for cardiac biomarker discovery. *PLoS One* [Internet]. 2016 [cited 2017 Apr 14];11(4). Available from: <http://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0154274&type=printable>
 10. Díaz Carrasco I, Guisado Rasco A, Fernández Ordoñez A. ¿Qué son los micro-RNA? ¿Para qué sirven? ¿Qué potenciales beneficios podrían tener en el contexto asistencial? *Cardiocoore*. 2016;51(4):161–6.
 11. Chistiakov DA, Orekhov AN, Bobryshev Y V. Cardiac-specific miRNA in cardiogenesis, heart function, and cardiac pathology (with focus on myocardial infarction). *J Mol Cell Cardiol* [Internet]. 2016;94:107–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2016.03.015>
 12. Zhou X, Mao A, Wang X, Duan X, Yao Y, Zhang C. Urine and Serum MicroRNA-1 as Novel Biomarkers for Myocardial Injury in Open-Heart Surgeries with Cardiopulmonary Bypass. *PLoS One*. 2013;8(4):8–11.
 13. Yao Y, Du J, Cao X, Wang Y, Huang Y, Hu S, et al. Plasma levels of microRNA-499 provide an early indication of perioperative myocardial infarction in coronary artery bypass graft patients. *PLoS One*. 2014;9(8):1–8.
 14. Bye A, Røsjø H, Nauman J, Silva GJJ, Follestad T, Omland T, et al. Circulating microRNAs predict future fatal myocardial infarction in healthy individuals - The HUNT study. *J Mol Cell Cardiol* [Internet]. 2016;97:162–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2016.05.009>
 15. Lima Rde C, Kubrusly LF, Nery AC, Pinheiro BB, Brick AV, de Souza DS et al. Guidelines for myocardial revascularization surgery. *Arq Bras Cardiol*. 2004;82(Suppl 5):1–20.
 16. Tarasoutchi F, Montera M, Grinberg M, Barbosa M, Piñeiro D, Sánchez C, et al. Diretriz Brasileira de Valvopatias - SBC 2011/ I Diretriz Interamericana de Valvopatias - SIAC 2011. *Arq Bras Cardiol*. 2011;97(5):01–67.
-

17. Kolh P, Windecker S, Alfonso F, Collet JP, Cremer J, Falk V, et al. 2014 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *Eur J Cardio-thoracic Surg.* 2014;46(4):517–92.
 18. Vahanian A, Alfieri O, Andreotti F, Antunes MJ, Barón-Esquivias G, Baumgartner H, et al. Guidelines on the management of valvular heart disease (version 2012). *Eur Heart J.* 2012;33(19):2451–96.
 19. Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO, Carabello BA, Erwin JP, Guyton RA, et al. 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with valvular heart disease: Executive summary :A report of the american college of cardiology/american heart association task force on practice guidelines. Vol. 129, *Circulation.* 2014. 2440-2492 p.
 20. Nishimura RA, Otto CM. 2017 AHA/ACC Focused Update of the 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients With Valvular Heart Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation.* 2017. 1-123 p.
 21. Cadore MP, Guaragna JC, Anacker JF, Albuquerque LC, Bodanese LC, Piccoli Jda C, et al. A score proposal to evaluate surgical risk in patients submitted to myocardial revascularization surgery. *Rev Bras Cir Cardiovasc [Internet].* 2010;25(4):447–56. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=21340373
 22. Piantá RM, Ferrari ADL, Heck AA, Ferreira DK, Piccoli J da CE, Albuquerque LC, et al. Atrioventricular block in coronary artery bypass surgery: perioperative predictors and impact on mortality. *Rev Bras Cir Cardiovasc [Internet].* 2014;164–72. Available from: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1678-9741.20140086>
 23. Yang W, Shao J, Bai X, Zhang G. Expression of Plasma microRNA-1/21/208a/499 in myocardial ischemic reperfusion injury. *Cardiology [Internet].* 2015;130(4):237–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25791720>
 24. Costa M a, Carere RG, Lichtenstein S V, Foley DP, de Valk V, Lindenboom W, et al. Incidence, predictors, and significance of abnormal cardiac enzyme rise in
-

patients treated with bypass surgery in the arterial revascularization therapies study (ARTS). *Circulation*. 2001;104(22):2689–93.

25. Mastro F, Guida P, Scrascia G, Rotunno C, Amorese L, Carrozzo A, et al. Cardiac troponin i and creatine kinase-MB release after different cardiac surgeries. *J Cardiovasc Med*. 2015;16(6):456–64.
 26. Fellahi J-L, Hedoire F, Le Manach Y, Monier E, Guillou L, Riou B. Determination of the threshold of cardiac troponin I associated with an adverse postoperative outcome after cardiac surgery: a comparative study between coronary artery bypass graft, valve surgery, and combined cardiac surgery. *Crit Care [Internet]*. 2007;11(5):R106. Available from: <http://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/cc6126>
 27. Moon MH, Song H, Wang YP, Jo KH, Kim CK, Cho K Do. Changes of cardiac troponin i and operative mortality of coronary artery bypass. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*. 2014;22(1):40–5.
 28. Adabag AS, Rector T, Mithani S, Harmala J, Ward HB, Kelly RF, et al. Prognostic Significance of Elevated Cardiac Troponin I After Heart Surgery. *Ann Thorac Surg*. 2007;83(5):1744–50.
 29. Buratto E, Conaglen P, Dimitriou J, Shan L, Yui MY, Rosalion A, et al. Predicting adverse outcomes in elective coronary artery bypass graft surgery using pre-operative troponin I levels. *Hear Lung Circ [Internet]*. 2014;23(8):711–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.hlc.2014.03.005>
 30. Shinde SB, Golam KK, Kumar P, Patil ND. Blood Lactate Levels During Cardiopulmonary Bypass for Valvular Heart Surgery. 2005;8:39–44.
 31. Evora PRB, Pearson PJ, Seccombe JF, Schaff H V, Preto R, Mn SPR. Lesão de Isquemia-Reperusão . Aspectos Fisiopatológicos e a Importância da Função Endotelial. *Arq Bras Cardiol*. 1996;66(4):239–45.
 32. Emanuelli C, Shearn AIU, Laftah A, Fiorentino F, Reeves BC, Beltrami C, et al. Coronary artery-bypass-graft surgery increases the plasma concentration of exosomes carrying a cargo of cardiac microRNAs: An example of exosome trafficking
-

out of the human heart with potential for cardiac biomarker discovery. PLoS One. 2016;11(4).

Acknowledgements

We would like to acknowledge Rafaela Radomnski da Silva for the help with samples preparations, Vera Elizabeth Gloss and Álvaro for the help with the statistical analysis.

Financial Support

Daniel Rodrigo Marinowic, Fernando Antonio Costa Xavier, and Pamela Azevedo received a scholarship from CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) and Lorenzo Barbieri Martinez was awarded with an undergrad scholarship from CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento).

We have no conflict of interest.

TABLES AND FIGURES

Table 1. Preoperative characteristics of patients who underwent cardiac surgery.

Variable	Total (N=115)	CABG (N=85)	Valve surgery (N=30)	P
Age (years)	62.0 ± 10.7	62.8 ± 9.9	59.7 ± 12.7	0.178
Gender				
Men	76 (66.1)	59 (69.4)	17 (56.7)	0.205
Women	39 (33.9)	26 (30.6)	13 (43.3)	
FC NYHA				
I	68 (59.1)	63 (74.1)	5 (16.6)	<0.001
II	23 (20)	11 (12.9)	12 (40)	0.004
III	19 (16.5)	8 (9.4)	11 (36.6)	<0.001
IV	5 (4.3)	3 (3.5)	2 (6.6)	0.612
Instable angina	30	29	1	0.001
Hypertension	89	71	18	0.008
EF	54.72 ± 12.39	53.44 ± 12.30	58.13 ± 12.16	0.076
CKD	29 (26.4)	23 (28.8)	6 (20.0)	0.354
Diabete Mellitus	47 (42.7)	38 (47.5)	9 (30.0)	0.098
Atrial fibrillation	5 (4.5)	2 (2.5)	3 (10.0)	0.124
Previous AMI	47 (42.7)	47 (58.8)	0 (0.0)	<0.001
Recent AMI	41 (37.3)	41 (51.3)	0 (0.0)	<0.001

CABG: Coronary artery bypass graft; AMI: acute myocardial infarction, CKD: Chronic kidney disease EF: left ventricular ejection fraction, FC NYHA: functional class - New York Heart Association.

Table 2. Overall trans and postoperative data and according to surgery type.

Variable	Total (N=115)	CABG (N=85)	Valve surgery (N=30)	P
Operative details				
CPB time (min)	85.15 ± 24.41	81.89 ± 24.30	94.37 ± 22.68	0.014
ACC time (min)	57.23 ± 20.77	51.54 ± 18.77	73.37 ± 17.64	<0.001
Intraaortic balloon	10 (9.1)	10 (12.5)	0 (0.0)	0.059
AMI	7 (6.4)	6 (7.5)	1 (3.3)	0.671
Postoperative outcome				
Stroke or TIA	8 (7.3)	5 (6.3)	3 (10.0)	0.681
Atrioventricular block	13 (11.8)	7 (8.8)	6 (20.0)	0.181
Acute renal failure	20 (18.2)	15 (18.8)	5 (16.7)	0.801
Respiratory infection	18 (16.4)	14 (17.5)	4 (13.3)	0.775
Mediastinitis	8 (7.3)	5 (6.3)	3 (10.0)	0.681
Return to theatre	2 (1.8)	1 (1.3)	1 (3.3)	0.473
Hospital lenght of stay (days)				
Preoperative	12.0 (7.0-20.3)	12.0 (6.3-20.0)	13.0 (7.0-21.5)	0.660
Postoperative	10.0 (7.0-17.5)	9,0 (7.0-15.8)	13,0 (9.5-24.0)	0.003
ICU lenght of stay	3.0 (2.0-6.0)	3.0 (2.0-5.0)	6.0 (3.0-7.3)	0.001
Mortality	10 (9.1)	7 (8.8)	3 (10.0)	1.000

CABG: Coronary artery bypass graft; ACC: aortic crossclamp, AMI: acute myocardial infarction, CPB: cardiopulmonar bypass, ICU: intensive care unit, TIA: transient ischemic attack.

Table 3. Mean and standard deviation of serum levels of CK-MB in the perioperative period.

Period	CK-MB (U/L)	
	CABG (n = 85)	Valve Surgery (n = 30)
T1 – Induction	6,29 ± 0,57	8,53 ± 1,63
T2 – 30 min CPB	8,15 ± 0,61	9,50 ± 1,14
T3 – 34°C	13,60 ± 1,07	18,76 ± 2,29
T4 – 1 h PAD*	34,88 ± 1,46	33,04 ± 4,97
T5 – 3 h PAD	39,88 ± 2,43	48,93 ± 7,26
T6 – 6 h PAD	36,02 ± 2,37	47,93 ± 7,96
T7 – 12 h PAD	40,12 ± 28,77	36,54 ± 6,50
T8 – 24 h PAD	28,77 ± 4,80	26,33 ± 3,95
T9 – 48 h PAD	15,69 ± 2,08	21,00 ± 5,69

CK-MB; creatinine kinase MB fraction; CABG: Coronary artery bypass graft; CPB: cardiopulmonary bypass; PAD: Paortic declamping.

Table 4. Mean and standard deviation of serum levels of troponin I in the perioperative period.

Period	Troponin I (pg/ml)	
	CABG (n = 85)	Valve Surgery (n = 30)
T1 – Induction	103,62 ± 29,54	29,13 ± 7,62
T2 – 30 min CPB	242,80 ± 107,60	136,39 ± 33,30
T3 – 34°C	189,57 ± 36,56	397,41 ± 107,74
T4 – 1 h PAD*	1724,34 ± 227,73	3707,09 ± 1200,08
T5 – 3 h PAD	3348,96 ± 300,49	4953,58 ± 863,31
T6 – 6 h PAD	4106,79 ± 588,40	5101,97 ± 813,98
T7 – 12 h PAD	5353,31 ± 843,19	5654,17 ± 1067,63
T8 – 24 h PAD	4815,78 ± 968,08	4261,92 ± 932,14
T9 – 48 h PAD	3172,91 ± 858,89	3935,69 ± 1693,63

CABG: Coronary artery bypass graft; CPB:cardiopulmonary bypass;
 PAD: Paortic declamping.

Table 5. Mean and standard deviation of serum levels of lactate in the perioperative period.

Time	Lactate (mmol/L)	
	CABG (N = 85)	Valve surgery (N = 30)
T1 – Induction	1,46 ± 0,08	1,33 ± 0,09
T2 – 30 min CPB	1,89 ± 0,09	1,78 ± 0,08
T3 – 34°C	1,87 ± 0,10	1,79 ± 0,10
T4 – 1 h PAD*	2,21 ± 0,12	2,31 ± 0,15
T5 – 3 h PAD	2,34 ± 0,16	2,88 ± 0,31
T6 – 6 h PAD	3,22 ± 0,27	3,47 ± 0,45
T7 – 12 h PAD	3,55 ± 0,31	3,35 ± 0,40
T8 – 24 h PAD	2,22 ± 0,17	2,56 ± 0,24
T9 – 48 h PAD	1,65 ± 0,08	1,76 ± 0,20

CABG: Coronary artery bypass graft; CPB: cardiopulmonary bypass; PAD: post aortic declamping.

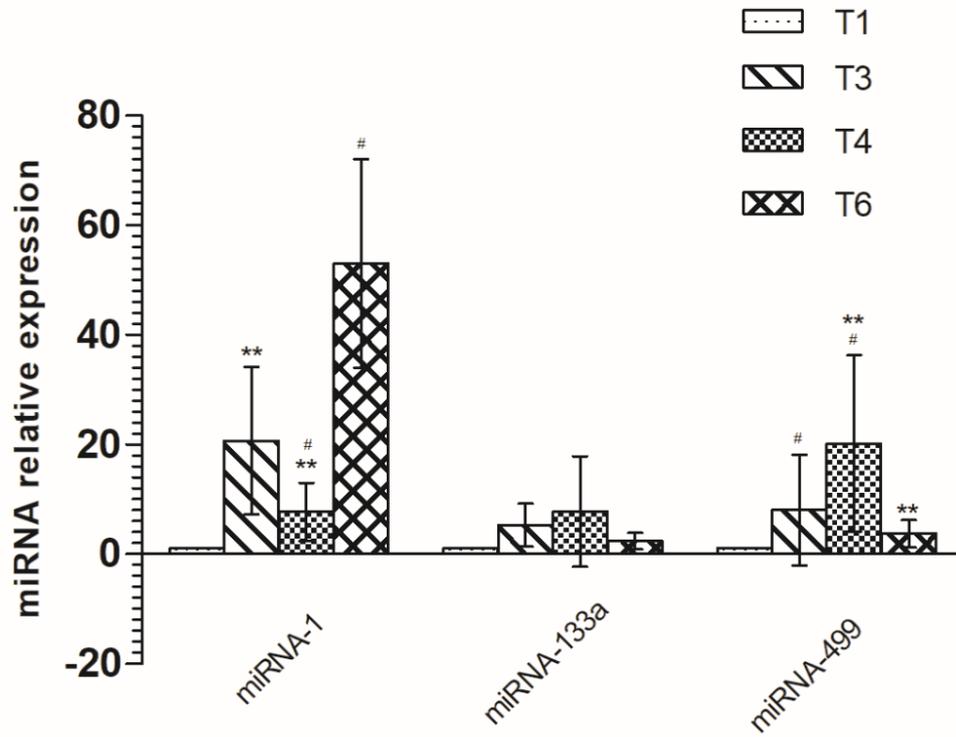


Figure 1: Relative quantification of mean miRNAs expression by qRT-PCR in samples collected during different periods. (**p<0.005; #p<0.05). T1: anesthetic induction; T3: rewarming; T4: 1 h post aortic declamping; T6: 6 h post aortic declamping.

Figure 2: Correlations between the mean of miRNAs relative expression and CK-MB, troponin I and lactate. miRNA-1 (a, b, c), miRNA-133a (d, e, f) e miRNA-499 (g, h, i). miRNA-1 correlated significantly with troponin I ($P = 0,0025$ and lactate ($P = 0.0002$).

