

ESCOLA DE MEDICINA
PÓS-GRADUAÇÃO EM PEDIATRIA E SAÚDE DA CRIANÇA

ANÁLISE DE BIOMARCADORES SÉRICOS DE HIPÓXIA PRÉ E
PÓS-OPERATÓRIOS EM PACIENTES COM CARDIOPATIA CONGÊNITA

FERNANDA SILVEIRA DE QUADROS

Porto Alegre,
2019

PÓS-GRADUAÇÃO - *STRICTO SENSU*



Pontifícia Universidade Católica
do Rio Grande do Sul

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL

ESCOLA DE MEDICINA

PÓS-GRADUAÇÃO EM PEDIATRIA E SAÚDE DA CRIANÇA

**ANÁLISE DE BIOMARCADORES SÉRICOS DE HIPÓXIA PRÉ E
PÓS-OPERATÓRIOS EM PACIENTES COM CARDIOPATIA CONGÊNITA**

FERNANDA SILVEIRA DE QUADROS

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-graduação em Medicina / Pediatria e Saúde da Criança da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Medicina/Pediatria.

Orientadora: Profa.Dra.Magda Lahorgue Nunes

Porto Alegre,
2019

Ficha Catalográfica

Q1a Quadros, Fernanda Silveira de

Análise de biomarcadores séricos de hipóxia pré e pós-operatórios em pacientes com cardiopatia congênita / Fernanda Silveira de Quadros . – 2019.

082.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança, PUCRS.

Orientadora: Profa. Dra. Magda Lahorgue Nunes.

1. cardiopatia congênita. 2. circulação extracorpórea. 3. biomarcador. 4. BDNF, IL-10. 5. TNF-alfa, VEGFR-1. I. Nunes, Magda Lahorgue. II. Título.

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

Bibliotecária responsável: Salete Maria Sartori CRB-10/1363

FERNANDA SILVEIRA DE QUADROS

**ANÁLISE DE BIOMARCADORES SÉRICOS DE HIPÓXIA PRÉ E
PÓS-OPERATÓRIOS EM PACIENTES COM CARDIOPATIA CONGÊNITA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-graduação em Medicina / Pediatria e Saúde da Criança da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Medicina/Pediatria.

Orientadora: Profa.Dra.Magda Lahorgue Nunes

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Claudia Ricachinevsky

Profa. Dra. Ana Paula Duarte de Souza

Prof. Dr. Pedro Celiny Ramos Garcia

Porto Alegre,
2019

“Para nós, portanto, no princípio foi a existência e só mais tarde chegou o pensamento. E para nós, o presente, quando vimos ao mundo e nos desenvolvemos, começamos ainda por existir e só mais tarde pensamos. Existimos e depois pensamos e só pensamos na medida que existimos, visto o pensamento ser, na verdade, causado por estruturas e operações do ser”

Antônio Damásio

*Dedico essa dissertação aos meus filhos
Marina e Lorenzo, pois Deus nos concede os
filhos para colocar em prova nossa capacidade
de amar ao próximo mais que a nós mesmos*

AGRADECIMENTOS

Sou grata a meus filhos e marido pela compreensão às minhas ausências em função dos compromissos de trabalho e de pesquisa. Agradeço a minha orientadora, Profa Magda Lahorgue, que é uma referência profissional para mim dentro da nossa especialidade, pelo apoio e pela contribuição no meu crescimento pessoal e profissional.

Aos apoiadores incansáveis do Instituto de Pesquisas Biomédicas da PUCRS, Daniel Marinovic e Gabriela Zaniratti que, durante todo o percurso do mestrado, contribuíram com idéias, com a execução da dosagem dos biomarcadores, com gráficos, com impressões e análises estatísticas.

A toda equipe de Cardiologia, Cirurgia Cardíaca do Hospital da Criança Santo Antônio por toda a assistência na captação dos pacientes e no entendimento das cardiopatias e procedimentos cirúrgicos, o que foi fundamental para a confecção da pesquisa e para a ampliação do meu conhecimento da “neurocardiologia”.

A toda equipe da Unidade de Terapia Intensiva do Hospital da Criança Santo Antônio, o meu muitíssimo obrigada pelos inúmeros ensinamentos no manejo dos cardiopatas, pela excelência na assistência a esses pacientes e pelo convívio diário cativante.

A toda equipe de Neuropediatria do Hospital da Criança Santo Antônio, da qual faço parte com muita satisfação, pelo auxílio, pelo coleguismo e presteza de sempre.

Por último, agradecimento especial à Carla do Carmo de Melo Rothmann por todo o apoio e paciência nessa trajetória, sempre procurando sanar minhas dúvidas, mesmo à distância.

RESUMO

Introdução: nos pacientes com cardiopatia congênita, somente a análise do paciente, no pré e pós-operatório, através de exame neurológico tem demonstrado baixo valor preditivo para desfecho neuropsicomotor, aventando a necessidade de incorporar outros métodos de avaliação do estado neurológico.

Objetivos: verificar a dosagem de biomarcadores de hipóxia, substâncias que podem ser usadas na prática clínica para o diagnóstico ou para identificar riscos de ocorrência de uma doença, em sangue periférico de pacientes com cardiopatia congênita, nos períodos pré e pós-operatórios, como indicadores de prognóstico neurológico, além de correlacionar aspectos clínicos prévios com o seguimento.

Métodos: estudo observacional, descritivo, do tipo transversal. Os pacientes foram selecionados na Unidade de Internação e na Unidade de Terapia Intensiva Pediátrica do Hospital da Criança Santo Antônio, do Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia, Porto Alegre/RS. A amostra foi composta de pacientes com idades de zero a 17 anos e 11 meses de vida, com cardiopatia congênita que foram submetidos à cirurgia cardíaca. Foram realizados exame neurológico pré-operatório e coleta de amostras de sangue pré e pós-operatória. Os biomarcadores estudados foram interleucina-10, fator neurotrófico derivado do cérebro ou BDNF, receptor tipo 1 do fator de crescimento endotelial ou VEGFR-1 e fator de necrose tumoral alfa ou TNF-alfa). As amostras foram analisadas através de um kit multiplex e de ensaio com a técnica de Luminex, no IPB. Foram excluídos os pacientes cujos pais não permitiram a coleta de sangue, cujos pais não assinaram o termo de consentimento ou eram menores de dezoito anos ou aqueles que apresentaram sinais e sintomas de instabilidade clínica e/ou síndromes genéticas complexas que poderiam alterar os biomarcadores por motivos alheios à cardiopatia. Além disso, foram excluídos aqueles pacientes que sofreram intercorrências da coleta como medo, recusa, reação vaso- vagal, punção arterial, dor e lesão de nervos, sangramento persistente, hematoma, alergia e infecção em que não for possível a coleta do sangue na primeira tentativa e a família não desejar submeter o paciente a uma nova coleta, em outro momento.

Resultados: a dosagem de IL-10 e VEGFR1 pós-operatórios evidenciou valores superiores às medições pré-operatórias, porém essa variação não demonstrou significância estatística ($p=0,34$ e $p=0,09$ respectivamente). As variações das dosagens

de BDNF e TNF-alfa pré e pós-operatórias apresentaram significância estatística ($p=0,05$ e $p=0,03$ respectivamente). Relacionando os biomarcadores com dois cortes de tempo da CEC (Circulação ExtraCorpórea), mais ou menos de 95 min, não foram encontradas variações com significância estatística, porém as dosagens de TNF-alfa, no pós-operatório, daqueles pacientes com maior tempo de CEC, tiveram queda mais expressiva, obtendo valor de $p=0,06$, que pode não ter apresentado significância estatística, em função do tamanho amostral pequeno. Comparando os dados clínicos em relação às complicações neurológicas, encontrou-se que quanto maior o tempo total de internação e de cirurgia, maior a probabilidade de o paciente apresentar complicações neurológicas no pós-operatório ($p=0,012$ e $0,025$ respectivamente). Além disso, se já existia uma história prévia de crises convulsivas, maior a probabilidade de apresentar crises convulsivas no pós-operatório ($p=0,05$).

Comparando-se os dados clínicos em relação à sepse no pós-operatório, evidenciou-se que quanto mais alta a IL-10 no pós-operatório, maior a probabilidade de ocorrência de sepse ($p=0,029$). Quanto ao exame físico neurológico tradicional, ressaltou-se que se alterado, maior a probabilidade também de o indivíduo apresentar atraso do desenvolvimento neuropsicomotor ($p=0,001$).

Conclusão: Os níveis pré-operatórios de IL-10, VEGFR-1, BDNF e TNF-alfa não estão diretamente relacionados com nenhuma das variáveis pesquisadas. Existe uma queda dos níveis de TNF alfa e BDNF no pós-operatório que demonstra a maior vulnerabilidade imunológica e neurológica dos pacientes nesse período, evidenciando que a cascata inflamatória desencadeada pelo procedimento cirúrgico está envolvida nos processos de sepse e de complicações neurológicas. Além disso, a maioria dos pacientes estudados já apresentava alterações de exame neurológico e desenvolvimento neuropsicomotor, antes mesmo de serem submetidos a qualquer procedimento, principalmente aqueles com as saturações periféricas de oxigênio mais baixas, deixando claro que a própria cardiopatia congênita deve implicar em alterações cerebrais relevantes e os danos são proporcionais ao grau de cianose. Por fim, o aumento dos níveis de IL-10 no pós-operatório relaciona-se, especificamente, com uma maior ocorrência de sepse.

Palavras-chave: cardiopatia congênita, circulação extracorpórea, biomarcadores, BDNF, IL-10, TNF-alfa, VEGFR-1.

ABSTRACT

Introduction: in patients with congenital heart disease, only preoperative and postoperative analysis of the patient through neurological examination has shown a low predictive value for neuropsychomotor outcome, suggesting the need to incorporate other neurological status assessment methods.

Objectives: To verify the dosage of biomarkers, substances that can be used in clinical practice for the diagnosis or to identify risks of occurrence of a disease, in peripheral blood of patients with congenital heart disease, in the pre- and postoperative periods, as indicators of prognosis neurological, and to correlate previous clinical aspects with follow-up.

Methods: Cross-sectional observational, descriptive study. Patients were selected at the Inpatient Unit and at the Pediatric Intensive Care Unit of the Santo Antônio Children's Hospital, at the Santa Casa de Misericórdia Hospital Complex, Porto Alegre / RS. The sample consisted of 22 patients with ages ranging from zero to 17 years and 11 months of age, with congenital heart disease who underwent cardiac surgery. Preoperative neurological examination and collection of pre and postoperative blood samples were performed. The biomarkers studied were interleukin-10, brain derived neurotrophic factor or BDNF, endothelial growth factor receptor 1 or VEGFR-1 and tumor necrosis factor alpha or TNF-alpha). Samples were analyzed by a multiplex and assay kit using the Luminex technique in the IPB. Patients whose parents did not allow blood collection, whose parents did not sign the consent form, were either under the age of eighteen years or those who showed signs and symptoms of clinical instability and / or complex genetic syndromes that could alter biomarkers for reasons unrelated to heart disease. In addition, those patients who have suffered interferences of collection such as fear, refusal, vasovagal reaction, arterial puncture, pain and nerve damage, persistent bleeding, hematoma, allergy and infection in which it is not possible to collect blood during the first attempt and the family does not wish to submit the patient to a new collection, at another time.

Results: Postoperative IL-10 and VEGFR1 showed higher values than preoperative measurements, but this variation did not show statistical significance ($p = 0.34$ and $p = 0.09$, respectively). Variations in pre and postoperative BDNF and TNF-alpha dosages were statistically significant ($p = 0.05$ and $p = 0.03$, respectively). Comparing the

biomarkers with two ECC (Extracorporeal Circulation) time slices, more or less than 95 min, no statistically significant variations were found, but the TNF-alpha dosages in the postoperative period were those patients with longer CPB, had a more significant fall, obtaining a value of $p = 0.06$, which may not have presented statistical significance, as a function of the small sample size. Comparing the clinical data regarding neurological complications, it was found that the longer the total time of hospitalization and surgery, the greater the probability that the patient presented postoperative neurological complications ($p = 0.012$ and 0.025 , respectively). In addition, if there was a previous history of seizures, it is more likely to present seizures in the postoperative period ($p = 0.05$). Comparing clinical data regarding postoperative sepsis, it was shown that the higher the postoperative IL-10, the greater the probability of occurrence of sepsis ($p = 0.029$). Regarding the traditional physical neurological examination, it was pointed out that if modified, the likelihood is also greater that the individual presented delay of neuropsychomotor development ($p = 0.001$).

Conclusion: Preoperative levels of IL-10, VGEFR-1, BDNF and TNF-alpha are not directly related to any of the variables investigated. There is a decrease in the levels of TNF alpha and BDNF in the postoperative period that demonstrates the greater immunological and neurological vulnerability of the patients in this period, evidencing that the inflammatory cascade triggered by the surgical procedure is involved in sepsis and neurological complications. In addition, most of the patients studied had neurological examination and neuropsychomotor development alterations before they were submitted to any procedure, especially those with lower peripheral oxygen saturations, making it clear that the congenital heart disease itself should involve cerebral changes and the damage is proportional to the degree of cyanosis. Finally, the increase in IL-10 levels in the postoperative period is specifically related to a higher occurrence of sepsis.

Key words: congenital heart disease, cardiopulmonary bypass, biomarkers, BDNF, IL-10, TNF-alpha, VEGFR-1

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características amostrais dos pacientes incluídos no estudo.....	30
Tabela 2. Características clínicas da amostra	31
Tabela 3. Correlações das variáveis avaliadas e os marcadores clínicos (pré e pós-cirurgia).	33

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Comparação dos resultados da IL-10.....	34
Figura 2. Comparação dos resultados da IL-10 pós-cirurgia	35

LISTA DE ABREVIATURAS

AVC	Acidente Vascular Cerebral
BDNF	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
CPB	Cardiopulmonary bypass
CEC	Circulação Extracorpórea
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CHD	Congenital Heart Disease ou Doença Cardíaca Congênita
CRP	Proteína C Reativa
EHI	Encefalopatia Hipóxico-Isquêmica
IL-1β	Interleucina - 1 beta
IL-2	Interleucina - 2
IL-2r	Receptor de Interleucina-2
IL-6	Interleucina -6
IL-10	Interleucina -10
IMC	Índice de Massa Corporal
IPB	Instituto de Pesquisas Biomédicas
PCT	Procalcitonina
PUCRS	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
SIRS	Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica
SNC	Sistema Nervoso Central
TGF-β	Fator de Crescimento Modificado
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
VEGFR-1	Receptor -1 do Fator de Crescimento Endotelial Vascular
UTIP	Unidade de Terapia Intensiva

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
3 JUSTIFICATIVA.....	24
4 OBJETIVOS.....	25
4.1 OBJETIVO GERAL	25
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
5 MATERIAIS E MÉTODOS	26
5.1 DELINEAMENTO	26
5.2 POPULAÇÃO E AMOSTRA	26
5.2.1 Critérios de Inclusão.....	26
5.2.2 Critérios de Exclusão.....	26
5.3 METODOLOGIA.....	27
5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	28
6 RESULTADOS.....	29
7 DISCUSSÃO	36
8 CONCLUSÃO	41
9 REFERÊNCIAS.....	42
ANEXOS	49
ANEXO 1 – APROVAÇÃO CEP.....	50
ANEXO 2 – ESCALA BRUNET-LEZINE (Brunet O, Lézine I. Desenvolvimento psicológico da primeira infância. Porto Alegre: Artes Médicas; 1981).....	53
ANEXO 3 – LEFÉVRE (Lefèvre AB. Exame neurológico evolutivo do pré-escolar normal. São Paulo: Sarvier, 1972.)	58
ANEXO 4 – EXAME EVOLUTIVO LOIS PICQ AND PIERRE VAYER DOS 7-11 ANOS (Picq, Lawrence, and Pierre Vayer. <i>Educação psicomotora e retardo mental: aplicação aos diferentes tipos de inadaptção</i>. Manole, 1985.).....	63
APÊNDICE	66
APÊNDICE 1 – ARTIGO ORIGINAL	67

1 INTRODUÇÃO

Os sistemas cardiovascular e neurológico estão intimamente conectados durante o desenvolvimento, saúde e doença. Dada a interconectividade entre esses dois sistemas, quando um deles sofre alterações patológicas, o outro é igualmente afetado. Além disso, existem doenças neurocardiológicas específicas que afetam ambos os sistemas simultaneamente, como a doença de Huntington, doença dos corpos de Lewy, ataxia de Friederich, doenças cardíacas congênicas, doença de Danon e síndrome de Timothy¹. Em função da singularidade dessas moléstias, destacam-se as cardiopatias congênicas pela maior prevalência e relevância clínica. Os recém-nascidos com cardiopatia congênita representam 2 a 5% da população pediátrica brasileira e requerem tratamento cirúrgico, precoce e especializado em centros terciários de alta complexidade². O risco de óbito e complicações cardiovasculares nessas cirurgias de difícil execução são consideráveis. Ademais, inúmeros estudos têm mostrado que esses indivíduos estão em risco para atraso do desenvolvimento neuropsicomotor, que está relacionado à combinação de imaturidade e lesões cerebrais adquiridas³.

A taxa de sobrevivência tem melhorado com avanços recentes nas técnicas cirúrgicas perioperatórias e no manejo desses pacientes nas unidades de terapia intensiva⁴. Avanços na cirurgia cardíaca nos últimos 25 anos, como parada circulatória através de hipotermia profunda e correções cirúrgicas mais precoces, aumentaram significativamente a sobrevida dessas crianças, bem como reduziu o número de desfechos neurológicos desfavoráveis causados pela hipóxia e cianose crônicos⁵. Atualmente, é sabido que existe um risco contínuo de mortalidade e morbidade, em particular, as incapacidades motora e cognitiva, que representam as complicações mais comuns a longo prazo e as com maior impacto negativo na qualidade de vida, performance acadêmica e na oportunidade de vida adulta independente⁶. O médico neurologista deve estar preparado para lidar com uma gama de complicações após a cirurgia cardíaca, que incluem eventos tromboembólicos agudos, lesões anóxicas, déficits cognitivos como delirium e declínio cognitivo⁷. O desfecho neurológico pós-operatório parece ser multifatorial e depende da interação de fatores pré-operatórios, intra-operatórios e pós-operatórios⁸.

Ainda no útero, o cardiopata pode estar sofrendo injúria cerebral, em função da

repercussão sistêmica das malformações⁹. Antes da cirurgia, hipóxia crônica, acidose, desnutrição, perfusão cerebral inadequada resultante da instabilidade hemodinâmica, anomalias cromossômicas, disgenesias cerebrais são os principais fatores de mau prognóstico¹⁰. Durante o procedimento, o dano hipóxico-isquêmico pode ser resultado de perfusão e metabolismo cerebral inadequados, alterações de temperatura e embolia cardiogênica, ao passo que, após, parada cardiorrespiratória, infecção, arritmias e outros fatores adicionam risco de lesão cerebral¹¹. As altas taxas de morbimortalidade dessas doenças complexas sugerem que seja dada mais atenção a monitorização neurológica e neuroproteção pré, intra e pós-operatória¹². Não foi identificado ainda um marcador preditivo consistente de mortalidade após cirurgia cardíaca, contudo, o lactato tem sido usado como um marcador de hipóxia celular e perfusão celular insuficiente e a hiperlactatemia tem sido associada com mortalidade e maiores complicações pós-operatórias¹³. Por outro lado, somente a análise do paciente, no pré e pós-operatório, através de exame físico tradicional e neurológico evolutivo tem demonstrado baixo valor preditivo para desfecho neuropsicomotor, aventando a necessidade de incorporar outros métodos de avaliação do estado neurológico¹⁴. Dessa forma, é imprescindível que sejam executados mais estudos científicos que possibilitem a compreensão dos fatores de risco modificáveis pré-operatórios, a influência do tempo cirúrgico e da importância da monitorização pré, intra e pós-operatória do sistema nervoso central para o desfecho neurológico¹⁵.

O BDNF ou fator neurotrófico derivado do cérebro é uma neurotrofina amplamente distribuída no sistema nervoso central (SNC) e é secretado pelos neurônios do SNC e astrócitos para promover o crescimento, diferenciação, regeneração e reparação neuronal, além de ser um marcador dos fatores de nutrição e do dano cerebral¹⁶. As duas formas de BDNF extracelular, BDNF pró e maduro, atuam de maneiras diferentes. O BDNF maduro é crucial na proteção do cérebro neonatal ou em desenvolvimento devido a lesão por isquemia¹⁷. Além disso, os níveis mais elevados de pro-BDNF são observados perinatalmente, então declina com a idade, embora a proforma permaneça detectável na idade adulta. Esses dados fornecem, em parte, a razão de que o cérebro de recém nascidos e infantes é mais frágil para o acidente vascular cerebral isquêmico devido a atividades neuronais de baixa frequência e à falta de uma quantidade adequada de BDNF maduro no sistema nervoso central¹⁸.

O factor de crescimento endotelial vascular (VEGF) é um peptídeo indutor de angiogênese com efeitos neurotróficos recentemente identificados¹⁹. Os principais mecanismos neuroprotetores do VEGF incluem: (1) modulação do fosfatidilinositol-3 kinase (PI3K) com a sinalização do fator nuclear B, via, inibição da atividade da caspase-3 e redução da apoptose neuronal isquêmica; (2) inibição das correntes dos canais lentos de potássio, (3) aumento da proliferação e migração de progenitores neurais na zona subventricular e melhora da neurogênese e maturação estriatal dos neurônios recém-nascidos em cérebros de ratos adultos após o AVC²⁰. As concentrações do VEGFR1 no plasma estão diretamente relacionadas com a gravidade da encefalopatia hipóxico-isquêmica e da cianose nas cardiopatias congênitas²¹.

As interleucinas são um grupo de inúmeras citocinas que funcionam como mediadores inflamatórios. A IL-6 produzida principalmente por células gliais inibe a síntese de TNF- α e IL-1 β , promove secreção do factor de crescimento nervoso e tem um efeito protetor no sistema nervoso central. No entanto, altas concentrações de IL-6 podem induzir inflamação e aumentar a permeabilidade vascular²². Estudos com sangue do cordão umbilical em neonatos a termo mostraram que as concentrações de IL-6 são significativamente maiores em lactentes com asfixia do que em pacientes saudáveis, mostrando que esses dados são considerados muito úteis para o diagnóstico de lesão cerebral.

A IL-10 desempenha um papel protetor no tecido cerebral inibindo a secreção de IL-1 β , IL-8 e TNF- α , inibindo a produção de agregação de leucócitos e quimiocinas, e reduzindo respostas inflamatórias no cérebro. Um estudo clínico mostrou que as concentrações séricas de IL-10, na fase aguda de neonatos com encefalopatia hipóxico-isquêmica, foram significativamente maiores do que no grupo controle, presumivelmente para tentar reduzir a resposta inflamatória ao estresse oxidativo²³. O TNF- α promove a síntese e liberação de IL-1 β e IL-8, a indução da apoptose de células nervosas, ruptura da barreira hematoencefálica e agrava danos cerebrais¹⁶. Outros estudos indicam que o TNF- α é um fator inflamatório envolvido no início precoce da encefalopatia hipóxico-isquêmica (EHI), com pico até às 24h após o nascimento e a concentração de TNF- α foi relacionado à gravidade da EIH e ao prognóstico dos pacientes.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Alguns estudos preconizam o uso da monitorização neurológica multimodal, isto é, combinação de eletroencefalograma contínuo com 2 a 16 canais, espectroscopia de infravermelho para controlar a oxigenação cerebral e ultrassom transcraniano com doppler durante a cirurgia. Porém, na monitorização multimodal é indispensável a presença de técnicos para colocação de eletrodos e de especialistas para a interpretação dos resultados, sendo irrealizável somente com o apoio do anestesista²⁴. Além disso, cada um desses modelos tem limitações importantes na detecção precoce das lesões neurológicas, e, com frequência, revelam anormalidades somente após danos catastróficos. Por fim, poucos tem correlação direta com o desfecho pós-operatório. Nesse contexto, os biomarcadores cerebrais estão emergindo como ferramentas úteis para avaliar prognóstico²⁵.

A circulação extracorpórea desencadeia uma resposta inflamatória que provoca queda da pressão arterial, aumento da frequência cardíaca e temperatura corporal, leucocitose e edema tecidual. Esses fenômenos são acompanhados pela ativação do sistema citocinas, incluindo interleucina 6 (IL-6), IL-10, receptor de IL-2 (IL-2r), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e um aumento da liberação de moléculas de adesão, que são biomarcadores importantes em várias doenças²⁶. Os biomarcadores são definidos como moléculas biológicas que podem ser utilizadas como indicadores de um novo início ou progressão de um processo biológico ou efeito de um tratamento. Biomarcadores tem se tornado cada vez mais relevantes no sentido de complementar outras modalidades diagnósticas, como o eletroencefalograma, potencial evocado, ultrassom transcraniano com doppler, espectroscopia de infravermelho e exames de imagem²⁷. A análise dos biomarcadores é fácil de executar, requer poucas fontes, é independente de condições clínicas e pode ter a capacidade de prever os resultados já em estágio inicial após parada cardiorrespiratória²⁸. Tais testes podem atuar como desencadeantes para a obtenção de estudos de neuroimagem e podem ser usados para avaliar a resposta a intervenções neuroprotetoras, prognosticar os resultados a longo prazo e auxiliar no aconselhamento familiar. Também poderiam potencialmente servir como critérios de inclusão em tempo real para futuros ensaios clínicos²⁹.

A cirurgia cardíaca em si desencadeia um processo inflamatório sistêmico complexo. A cascata inflamatória contribui para complicações pós-operatórias tais como insuficiência respiratória, disfunção renal, hepática, disfunção neuropsicológica e, em alguns casos, falência múltipla dos órgãos. A resposta inflamatória é mais intensa ainda em neonatos que em lactentes, uma vez que a barreira hematoencefálica em modelos experimentais demonstrou que a inflamação sistêmica prolongada no período pós-natal inicial leva a um aumento transitório da permeabilidade dos vasos sanguíneos no cérebro para proteínas séricas³⁰. O aparecimento de concentrações séricas aumentadas de IL-6 após a CEC é um marcador consistente da ativação da cascata inflamatória e um preditor de disfunção orgânica subsequente. As concentrações séricas de IL-6 são mais elevadas entre os pacientes com complicações após CEC e disfunção ventricular³¹.

Vários parâmetros clínicos e laboratoriais adquiridos durante ou após a cirurgia, são usados para prever o resultado de intervenções cardio-cirúrgicas. Ao lado da ativação do complemento, coagulação, via fibrinolítica e cascatas de calicreína, degranulação de neutrófilos, liberação de protease e produção de radicais livres, várias citocinas pró-inflamatórias são sintetizadas por células mononucleares, incluindo interleucina 1 b, tumor factor de necrose- α , interleucina 6 e interleucina 83. Essas citocinas desempenham um papel fundamental na cascata inflamatória associada a circulação extracorpórea, iniciando a resposta da fase aguda e levando a síntese de proteínas, como C-reativa proteína (CRP) e procalcitonina (PCT). Vários fatores podem desencadear a resposta inflamatória sistêmica pós-operatória incluindo trauma cirúrgico, lesão de isquemia-reperfusão, endotoxemia, e ativação de leucócitos por superfícies artificiais. Este processo inflamatório envolve a ativação de linfócitos, monócitos/macrófagos, células endoteliais e miócitos cardíacos que podem expressar e secretar muitas citocinas pró-inflamatórias, incluindo o fator de necrose tumoral (TNF- α), interleucinas (IL-1, IL-6 e IL-8), bem como citocinas antiinflamatórias IL-4, IL-10 e fator de crescimento modificado (TGF- β)³².

Embora o início do processo de cascata inflamatória é coincidente com a CEC, os mecanismos causais ainda necessitam ser bem esclarecidos. A hipóxia é considerada uma das responsáveis pela translocação bacteriana no intestino, levando a liberação de endotoxina sistêmica que atua como um poderoso gatilho para produção de citocinas e procalcitonina. Esta ativação mostra fortes semelhanças com

as observadas na sepse. Portanto, sinais clínicos após intervenção cirúrgica com CEC podem levar erroneamente ao diagnóstico de complicações pós-operatórias, particularmente infecções³³. Vários estudos também mostram que as concentrações de IL-6 no pós-operatório estão diretamente relacionadas a mortalidade nos primeiros trinta dias após cirurgia cardíaca. Já a elevação do nível de procalcitonina associa-se com complicações renais³⁴. Com relação à concentração de IL-6, em estudo caso-controle, demonstrou-se que está aumentada tanto nas cardiopatias acianóticas, como nas cianóticas, em comparação com indivíduos saudáveis e se correlaciona negativamente com o índice de massa corporal³⁵. Os níveis de TNF alfa e IL-6 são proporcionais à severidade da doença cardíaca, enquanto que IL-10 tem uma relação inversa³⁶.

Não se sabe claramente o motivo ainda, mas todos os pacientes com doença cardíaca congênita tem o número de micropartículas endoteliais circulantes aumentado. Micropartículas são geradas a partir de uma variedade de fontes, incluindo células endoteliais, plaquetas, células T e contêm centenas de proteínas, algumas das quais podem prejudicar a vasodilatação, induzir lesões pulmonares e / ou ativar inflamação. Em função disso, acabam também aumentando os níveis de TNF e IL-6³⁷. A endotoxemia estimula a secreção de citocinas direta e indiretamente. Apesar disso, a circulação extracorpórea também pode levar a endotoxemia através do contato com o próprio circuito ou através da translocação bacteriana no intestino pelo baixo fluxo. O teste de atividade da endotoxina em crianças submetidas a CEC frequentemente fica acima de 0,4 e tem pico máximo de 24 a 48h após o procedimento, contudo não é preditor de infecção por Gram-negativo³⁸. Ademais, é sabido que maioria das crianças com grave doença cardíaca congênita tem evidência de endotoxemia perioperatória, dado que influencia negativamente o prognóstico³⁹.

TNF-a e IL-6 parecem ser importantes mediadores do processo de caquexia, embora essa associação não está bem estabelecida. A caquexia cardíaca se relaciona principalmente à perda de massa corporal magra, o que resulta em redução da força e da função muscular e conseqüentemente comprometimento do sistema imune. Esta síndrome provavelmente ocorre em crianças com insuficiência cardíaca congestiva crônica e com hipoxemia crônica por shunt⁴⁰. Em estudos de citocinas e hipotermia durante a CEC, evidenciou-se a correlação entre os níveis circulantes de IL-10 e o grau de hipotermia, sugerindo um papel modulador da hipotermia na

produção ou secreção de IL-10, ou ambos. IL-10, através da regulação da produção de citocinas pró-inflamatórias, pode desempenhar um papel protetor em pacientes submetidos a operações cardíacas⁴¹.

Apesar de toda a resposta inflamatória após a cirurgia, não existe uma correlação direta entre os níveis séricos das citocinas e fator de necrose tumoral com a presença de lesões de substância branca na ressonância magnética de crânio, mostrando que outros fatores clínicos modificáveis e não modificáveis podem estar imbricados com a gênese dessas injúrias⁴². Quanto mais elevados os níveis de grelina e TNF pós-operatórios, maior o atraso do desenvolvimento, uma vez que a grelina é um hormônio relacionado ao ganho de peso e o TNF está implicado no processo de caquexia cardíaca⁴³. Fora isso, existe uma relação estatística inversa entre a concentração pós-operatória de TNF e o status nutricional do paciente, principalmente nos casos de Tetralogia de Fallot, a cardiopatia congênita cianótica mais comum⁴⁴.

Existem estudos comparando também o desfecho dos pacientes cianóticos e acianóticos, submetidos a CEC com hiperoxemia e normoxemia. O manejo hiperoxêmico durante a CEC pode levar a uma lesão de reoxigenação miocárdica, além de danos pulmonares. As pesquisas têm comprovado que o manejo normoxêmico da CEC está associado com uma resposta inflamatória mais branda (IL-6, IL-8 e TNF alfa)⁴⁵. O uso do corticóide para reduzir a resposta inflamatória também já foi hipotetizado, porém pesquisas sugerem que o uso pré-operatório da dexametasona provoca supressão quantitativa da Interleucina-6 e aumento da ativação da Interleucina-10, mas não se traduz em benefício clínico no curto prazo. Apesar disso, não foram observados efeitos adversos, insinuando que o uso de corticóides possa ser uma prática padrão possível em crianças mais jovens submetidas a cirurgias cardíacas abertas⁴⁶. A incidência de infecção pós-operatória após CEC, em lactentes e crianças, varia entre 16 e 31% e é uma complicação importante. A CEC acarreta um estado de imunossupressão transitório que é responsável por predispor as crianças submetidas à cirurgia cardíaca a um risco aumentado de infecção pós-operatória⁴⁷.

O fator de necrose tumoral, TNF, além de estar envolvido na caquexia cardíaca, na patofisiologia da sepse, em complicações pós-operatórias como falência múltipla de órgãos e síndrome de hiperpermeabilidade capilar sistêmica, pode atuar como um

importante indicador biológico para monitorar a eficácia da CEC em crianças com cardiopatia congênita⁴⁸.

O VEGF (fator de crescimento endotelial) é um importante estimulador da angiogênese. Em pacientes com doença cardíaca congênita cianótica, aumento dos níveis séricos do fator de crescimento endotelial são proporcionais ao grau de cianose⁴⁹. Quantidades notáveis de neovascularização se desenvolvem em pacientes com cardiopatia cianótica congênita, que possui baixo fluxo sanguíneo pulmonar e cianose sistêmica. A neovascularização nesses pacientes tem um papel compensatório na hipoxia sistêmica e pode ser importante para a sobrevivência de órgãos⁵⁰. Foi observada uma desregulação geral da angiogênese com predomínio de um ambiente antiangiogênico no tecido cerebral de fetos com cardiopatia congênita, sugerindo que esses fetos podem ter um comprometimento angiogênico intrínseco que poderia contribuir para a perfusão cerebral prejudicada e o desenvolvimento neurológico anormal mais tarde na vida⁵¹. Embora a hipóxia possa ser um fator de elevação dos níveis de VEGF, outros fatores como citocinas também podem contribuir⁴⁹. Após as correções cirúrgicas, foi demonstrado que os níveis de VEGF tendem a normalizar, principalmente nas cardiopatias acianóticas. Entre as correções cirúrgicas cardíacas, no procedimento do tipo Fontan, o VEGF não normaliza e os vasos colaterais acabam afetando significativamente o prognóstico dos pacientes. Esses vasos colaterais podem trazer sangue dessaturado de volta ao coração, aumentando a cianose e deteriorando fisiologicamente o Fontan⁵². Esse aumento da VEGF provavelmente reflete uma variedade de influências e não simplesmente a gravidade da cianose e pode desempenhar um papel importante na fisiopatologia hemodinâmica dos pacientes com doença cardíaca cianótica⁵³. A angiogênese é uma modalidade de tratamento promissor para a doença cardíaca. Está em nível experimental ainda, mas é provável que reproduza com sucesso o processo natural de vascularização que todos os seres humanos sofrem durante crescimento e desenvolvimento e se tornará um importante modalidade para o tratamento da doença arterial coronariana⁵⁴.

O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) é um membro do grupo das neurotrofinas, que é conhecido por desempenhar papéis reguladores fundamentais na atividade neuronal e funções cognitivas. Fora isso, é um fator neurotrófico com um papel importante na regulação do peso corporal, índice de massa corporal (IMC),

obesidade e doença arterial coronariana⁵⁵. Recentemente, descobriu-se que o BDNF protege o coração, regulando o sistema nervoso central e promovendo neovascularização do tecido isquêmico, através do recrutamento de células endoteliais⁵⁶. Em experimentos com modelo animal, verificou-se que efeito do BDNF parece ser exclusivamente inotrópico e lusitrópico, pois não afeta a frequência de contração cardíaca espontânea. Por outro lado, aumenta a pressão sistólica e diminui a diastólica, embora não influencie o fluxo coronário⁵⁷. Além disso, o BDNF reduz o estresse oxidativo e diminui a apoptose do miocárdio e pode atenuar a disfunção cardíaca e melhorar a sobrevivência animal na sepse⁵⁸. Entre todas as neurotrofinas, o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) se destaca pelo alto nível de expressão no cérebro e seus potentes efeitos nas sinapses. Diversos efeitos do BDNF nas sinapses cerebrais resultam da complexa integração das cascatas de sinalização, bem como os efeitos diametralmente opostos dos pro-forma madura através de receptores distintos, TrkB e p75NTR. Muitos aspectos da biologia celular do BDNF é regulada pela atividade neuronal. Ademais, numerosos estudos estabeleceram que O BDNF desempenha um papel crítico na potencialização a longo prazo do hipocampo (LTP), uma melhoria da eficácia sináptica que se considera subjacente à aprendizagem e à memória⁵⁹. Dessa forma, sua funcionalidade também está associada na patofisiologia de doenças como Alzheimer e demência. Por fim, a expressão adequada de BDNF desempenha um papel importante também na regulação do comportamento, sendo níveis baixos associados com doenças psiquiátricas como depressão maior⁶⁰.

3 JUSTIFICATIVA

A doença cardíaca congênita (CHD) é o tipo de defeito ínsito mais comum ao nascimento. No Brasil e no mundo, diariamente são realizadas inúmeras cirurgias corretivas e muitos leitos da Unidade de Terapia Intensiva são ocupados por pacientes com as mais diversas intercorrências pós-operatórias, com destaque para as neurológicas que são tão prevalentes, quanto incapacitantes a longo prazo. Não existem protocolos sistematizados de neuromonitorização durante a CEC e são muitas as dificuldades técnicas para a realização de vários métodos de exames no transoperatório. Nesses indivíduos, o risco da sedação para a execução de exames de imagem acaba impossibilitando a realização de uma avaliação neurológica mais precisa no pré-operatório. A concentração plasmática de biomarcadores de lesões cerebrais, após CEC, está associado a desfechos neurológicos desfavoráveis e a alterações nos exames de neuroimagem. Uma vez que a neuromonitorização com EEG, ecodoppler e outros exames requer técnicos específicos e podem se alterar com uso de drogas anestésicas e hipotermia, a coleta dos biomarcadores é simples, rápida e não depende do estado clínico do paciente. Sendo assim, seria bastante útil desenvolver um painel específico de biomarcadores para triagem de possíveis complicações clínicas e neurológicas, a fim de direcionar os pacientes para a realização de exames e para neurorreabilitação imediata.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a dosagem dos biomarcadores (interleucina-10, fator neurotrófico derivado do cérebro ou BDNF, receptor tipo 1 do fator de crescimento endotelial ou VEGFR-1 e fator de necrose tumoral alfa ou TNF-alfa) em sangue periférico de pacientes com cardiopatia congênita, nos períodos pré e pós-operatórios.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Relacionar os níveis de biomarcadores pré-operatórios com o grau de cianose do paciente, saturação basal, estado clínico e desenvolvimento neuropsicomotor;
 - Relacionar os níveis dos biomarcadores pré e pós-operatórios com o desfecho clínico e neurológico;
 - Relacionar os níveis de biomarcadores pós-operatórios com o tempo de CEC e intercorrências transoperatórias;
 - Comparar os níveis pré e pós-operatórios de biomarcadores e estado neurológico em ambos os momentos.
-

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 DELINEAMENTO

Estudo observacional, descritivo, do tipo transversal

5.2 POPULAÇÃO E AMOSTRA

Os pacientes foram selecionados na Unidade de Internação e na Unidade de Terapia Intensiva Pediátrica do Hospital da Criança Santo Antônio, do Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia, Porto Alegre/RS, de dezembro de 2018 a abril de 2019. A amostra foi composta de 22 pacientes com idades de zero a 17 anos e 11 meses de vida, com cardiopatia congênita que foram submetidos a cirurgia cardíaca.

5.2.1 Critérios de Inclusão

Foram incluídos pacientes pediátricos, com cardiopatias congênitas cianóticas e acianóticas, oriundos da Unidade de Internação Cardiológica, que não apresentassem instabilidade clínica e/ou crises de cianose que pudessem colocar o paciente em risco para coleta de sangue periférico e que tinham plano de correção cirúrgica breve. Aos responsáveis legais, foi aplicado termo de consentimento e sanadas dúvidas sobre execução e objetivos da pesquisa. Aos pacientes maiores de 6 anos, foi aplicado termo de assentimento do menor.

5.2.2 Critérios de Exclusão

Foram excluídos os pacientes cujos pais não permitiram a coleta de sangue, cujos pais não assinaram o termo de consentimento ou forem menores de dezoito anos ou aqueles que apresentarem sinais e sintomas de instabilidade clínica e/ou

síndromes genéticas complexas que poderiam alterar os biomarcadores por motivos alheios à cardiopatia. Além disso, foram excluídos aqueles pacientes que sofreram intercorrências da coleta como medo, recusa, reação vaso-vagal, punção arterial, dor e lesão de nervos, sangramento persistente, hematoma, alergia e infecção em que não for possível a coleta do sangue na primeira tentativa e a família não desejar submeter o paciente a uma nova coleta, em outro momento. Os critérios clínicos de exclusão são baseados em sinais e sintomas de instabilidade clínica, como alteração extrema de pressão arterial (acima do percentil 95 para a idade e peso e abaixo do percentil 10 para a idade e peso), alterações extremas de temperatura corporal (temperatura axilar inferior a 36°C ou maior de 37,5°C), insuficiência respiratória (taquipnéia de acordo com os critérios por idade e queda de saturação abaixo do aceitável para a sua cardiopatia específica), desidratação, arritmia cardíaca refratária (aqueles pacientes que já estão medicados com anti-arrítmicos, mas persistem com alterações de ritmo cardíaco) e risco de crise aguda de hipóxia (piora do estado geral, sonolência, queda de saturação, redução do sopro sistólico).

5.3 METODOLOGIA

Os pacientes selecionados foram submetidos a anamnese, exame neurológico tradicional e exame neurológico evolutivo (escalas de Brunet-Lèzine, Lèfevre ou Picq-Vayer) em avaliação pré-operatória. A primeira amostra de sangue periférico foi coletada nas 24h anteriores ao procedimento cirúrgico e a segunda amostra no pós-operatório imediato (até 24h após o término da cirurgia). Sequencialmente, as amostras foram armazenadas apropriadamente e levadas pelo próprio pesquisador até o Instituto de Pesquisas Biomédicas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), laboratório de Neurociências, aos cuidados do pesquisador Prof. Dr. Daniel Marinowic, sito no 2o andar do Hospital São Lucas (Avenida Ipiranga, 6690 - Jardim Botânico, Porto Alegre/RS, cep 90610-000) para análise. As amostras foram analisadas através de um kit multiplex e de ensaio com a técnica de Luminex. Os biomarcadores BDNF, TNF-alfa, IL-10 e VEGFR-1 de cada paciente foram analisados e comparados nos períodos pré e pós-operatórios. Além disso, foram realizadas avaliações neurológicas periódicas durante toda a internação hospitalar do

paciente, bem como exames e terapias complementares que se fizeram necessários. As variáveis clínicas avaliadas foram: idade, sexo, tipo de cardiopatia, desenvolvimento neuropsicomotor, exame físico neurológico, história de convulsões prévias, comorbidades, tipo de cirurgia realizada, saturação periférica de oxigênio pré-cirúrgica, tempo total de internação, tempo de internação na UTI, tempo total de cirurgia, tempo total de CEC, ocorrência de sepse, complicações neurológicas.

5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados quantitativos (distribuição assimétrica) foram expressos em mediana e intervalo interquartil. As medidas qualitativas foram apresentadas em frequência absoluta e relativa. A comparação dos dados quantitativos (idade, SPO2, tempo de algum desfecho e biomarcadores) entre dois grupos/categorias (complicações neurológicas, sepse, crises convulsivas, exame neurológico, tempo de CEC, biomarcadores antes/após a cirurgia) foi realizada teste de Wilcoxon (amostras relacionadas) ou pelo teste U de Man-Whitney (amostras independentes). Para fins comparativos, os dados de tempo de CEC foram estratificados também de acordo com mediana dos resultados obtidos no estudo (95 minutos). Já as variáveis qualitativas (complicações neurológicas, sepse, crises convulsivas, exame neurológico, DNPM prévio, convulsões, comorbidades, CEC) foram analisadas pelo teste Exato de Fisher e/ou pelo teste de Qui-quadrado de Pearson. Por fim, a correlação dos dados quantitativos foi realizada pelo teste de correlação de Spearman. Todas as análises e processamento dos dados foram realizados no programa SPSS 18,0. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

6 RESULTADOS

As características clínicas da amostra estão sumarizadas na tabela 1. Foram selecionados, no total, 22 pacientes, de zero a 17 anos e 11 meses, com cardiopatia congênita, cianótica ou acianótica, submetidos à cirurgia cardíaca. Um paciente com cardiopatia complexa, Pentalogia de Cantrell, foi a óbito no transoperatório, por choque cardiogênico. Outro paciente foi a óbito no pós-operatório, na Unidade de Terapia Intensiva, por complicações de sepse. A amostra foi composta, predominantemente, de indivíduos com idade entre zero e 5 anos (78,9%), com mediana de 1 ano e intervalo interquartil de 0,58 a 5,83 anos e do sexo feminino (57,9%). Nos tipos de cardiopatias congênitas, predominaram as complexas (57,9%), seguida de comunicação interventricular (15,8%), Tetralogia de Fallot (21,1%) e estenose mitral (5,3%). Quanto ao desenvolvimento neuropsicomotor, 57,9% dos pacientes apresentavam atraso, assim como 52,6% apresentavam alterações no exame físico neurológico tradicional. Cerca de 15,8%, já tinham história prévia de crises convulsivas e, 10,1%, já tinham diagnóstico de epilepsia. Dois indivíduos possuíam diagnóstico genético de Síndrome de Down. Sobre as correções cirúrgicas, em um sujeito do estudo, estava programada cirurgia de anastomose cavopulmonar ou procedimento de Fontan, porém, por dificuldades técnicas e anatômicas no transoperatório, acabou realizando somente ligadura da veia ázigos e sendo listado para transplante. A ampliação da via de saída do ventrículo direito foi a opção cirúrgica mais utilizada, englobando 31,6% dos procedimentos. Saturação periférica de oxigênio dos pacientes variou de 60 a 100%, ficando com uma mediana de 92 e intervalo interquartil de 80 a 96%. Os pacientes com as saturações mais baixas (60 a 80%), mesmo não tendo história prévia de crises convulsivas e não apresentando complicações neurológicas no pós-operatório, de antemão, tinham alteração de exame neurológico e/ou atraso do desenvolvimento neuropsicomotor. O tempo de internação em Unidade de Terapia Intensiva teve uma mediana de 9 dias, com intervalo interquartil de 4 a 25 dias e, de internação hospitalar total, mediana de 30, com intervalo interquartil de 8 a 32 dias. Em relação ao tempo total cirurgia, a mediana foi de 259 minutos, com intervalo interquartil de 215 a 319 minutos; e, o tempo total de CEC, com mediana de 105 minutos e intervalo interquartil de 57 a 118 minutos. Em

decorrência de mudanças no planejamento cirúrgico intraoperatório, dois pacientes acabaram não sendo submetidos a CEC. Das complicações clínicas pós-operatórias, a sepse atingiu 42,1% dos indivíduos e 21,1% convulsionaram nesse período.

Tabela 1. Características amostrais dos pacientes incluídos no estudo

Variáveis avaliadas	N=19
Idade, anos	1,00 (0,58 – 5,83)
Idade, n (%)	
< 1 ano	08 (42,1)
1 a 5 anos	07 (36,8)
6 a 12 anos	04 (21,1)
Sexo feminino, n (%)	11 (57,9)
Tipo de cardiopatias, n (%)	
Complexas	11 (57,9)
CIV	03 (15,8)
TOF	04 (21,1)
Estenose mitral	01 (5,3)
DNPM, n (%)	
Adequado	08 (42,1)
Atrasado	11 (57,9)
Exame neurológico, n (%)	
Normal	09 (47,4)
Alterado	10 (52,6)
Convulsões prévias, n (%)	
Sim	03 (15,8)
Não	16 (84,2)
Comorbidades, n (%)	
Epilepsia	02 (10,5)
Síndrome de <i>down</i>	02 (10,5)
Nenhuma	15 (78,9)
Cirurgia, n (%)	
Ampliação da via de saída do VD	06 (31,6)
Correção CIV	04 (21,1)
Anastomose cavopulmonar ou <i>fontan</i>	02 (10,5)
Correção de tetralogia de <i>fallot</i>	02 (10,5)
Implante de prótese valvar	02 (10,5)
<i>Rastelli</i>	01 (5,3)
Bandagem troncopulmonar	01 (5,3)
Ligadura da veia ázigos	01 (5,3)

Dados quantitativos apresentados em mediana e intervalo interquartil. Variáveis qualitativas expressas em frequência absoluta (n) e relativa (%). CIV: Comunicação Interventricular. TOF: Tetralogia de Fallot. DNPM: desenvolvimento neuropsicomotor. VD: ventrículo direito.

A dosagem de IL-10 e VEGFR1 pós-operatórios evidenciou valores superiores às medições pré-operatórias, porém essa variação não demonstrou significância estatística ($p=0,34$ e $p=0,09$ respectivamente). As variações das dosagens de BDNF e TNF-alfa pré e pós-operatórias apresentaram significância estatística, ficando com valor de $p=0,05$ e $p=0,03$ respectivamente. Relacionando os biomarcadores com dois cortes de tempo da CEC, mais de 95 min; ou menos de 95 min, não foram encontradas variações com significância estatística, porém as dosagens de TNF-alfa, no pós-operatório, daqueles pacientes com maior tempo de CEC, tiveram queda mais expressiva, obtendo valor de $p=0,06$, que pode não ter apresentado significância estatística, em função do tamanho amostral pequeno.

Tabela 2. Características clínicas da amostra

Variáveis avaliadas	N=19
SPO ₂ prévia, percentual	92,00 (80,00 – 96,00)
SPO ₂ prévia, n (%)	
60 a 70	01 (5,3)
71 a 80	04 (21,1)
81 a 90	04 (21,1)
91 a 100	10 (52,6)
Tempo de internação na UTI, dias	9,00 (4,00 – 25,00)
Tempo total de internação, dias	30,00 (8,00 – 32,00)
Tempo total de cirurgia, minutos	259,00 (215,00 – 319,00)
Tempo total de CEC, minutos	105,00 (57,00 – 118,00)
Tempo total de CEC, n (%)	
Sim	17 (89,5)
Não	02 (10,5)
Sepse, n (%)	
Sim	08 (42,1)
Não	10 (52,6)
Óbito no bloco	01 (5,3)
Complicações neurológicas, n (%)	
Crises convulsivas	04 (21,1)
Nenhuma	14 (73,7)
Óbito no bloco	01 (5,3)
Marcadores inflamatórios prévios	
IL-10, pg/mL	3,34 (1,63 – 14,06)
BDNF, pg/mL	26509,82 (21089,14 – 59389,08)
TNF-afa, pg/mL	17,67 (8,42 – 22,91)
VEGFR-1, pg/mL	5926,89 (1890,07 – 7998,58)

Dados quantitativos apresentados em mediana e intervalo interquartil. Variáveis qualitativas expressas em frequência absoluta (n) e relativa (%). SPO₂: Saturação periférica de oxigênio. CEC: circulação extracorpórea. IL-10: Interleucina-10. BDNF: Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro. TNF-alfa: Fator de Necrose Tumoral Alfa. VEGFR-1: Receptor 1 do Fator de Crescimento EndotelialVascular

Comparando os dados clínicos em relação às complicações neurológicas, encontrou-se que quanto maior o tempo total de internação e de cirurgia, maior a probabilidade de o paciente apresentar complicações neurológicas no pós-operatório, com valores de $p=0,012$ e $0,025$ respectivamente. Além disso, se já existia uma história prévia de crises convulsivas, maior a probabilidade de apresentar crises convulsivas no pós-operatório, com valor de $p=0,05$. Dos 4 pacientes que manifestaram crises convulsivas no pós-operatório, 3 (75%) já tinham história prévia de crises convulsivas e também tiveram sepse no pós-operatório. Todos mantinham saturação periférica de oxigênio entre 80 e 97%, não estando entre os pacientes com saturação mais baixa. Uma metade deles apresentava cardiopatia complexa e a outra metade, Tetralogia de Fallot. Um dos pacientes com crises convulsivas pós-operatórias tinha diagnóstico de Síndrome de Down. O único paciente com crises convulsivas pós-operatórias sem história prévia, possuía uma cardiopatia complexa e, em função da dificuldade anatômica da correção cirúrgica, acabou não sendo submetido ao procedimento planejado e, conseqüentemente, à circulação extracorpórea. Efetivamente, foi realizada bandagem de tronco pulmonar sem CEC, estratégia que durou 186 minutos, porém acabou passando por inúmeras complicações clínicas, totalizando 71 dias de internação na UTI e 98 dias de internação hospitalar total. Comparando-se os dados clínicos em relação à sepse no pós-operatório, evidenciou-se que quanto mais alta a IL-10 no pós-operatório, maior a probabilidade de ocorrência de sepse, com $p=0,029$. Quanto ao exame físico neurológico tradicional, ressaltou-se que se alterado, maior a probabilidade também de o indivíduo apresentar atraso do desenvolvimento neuropsicomotor, com $p=0,001$.

Tabela 3. Correlações das variáveis avaliadas e os marcadores clínicos (pré e pós-cirurgia).

Variáveis avaliadas	IL-10 (Pré)		IL-10 (Pós)		BDNF (Pré)		BDNF (Pós)		TNF-alfa (Pré)		TNF – alfa (Pós)		VEGFR-1 (Pré)		VEGFR-1 (Pós)	
	(r)	p	(r)	p	(r)	p	(r)	p	(r)	p	(r)	p	(r)	p	(r)	p
Idade, anos	0,46	0,09	0,13	0,66	0,36	0,20	-0,18	0,53	0,30	0,31	-0,02	0,93	0,31	0,31	0,16	0,60
SpO ₂ , percentual	-0,30	0,29	-0,20	0,50	0,14	0,62	-0,25	0,38	0,27	0,37	-0,02	0,95	0,08	0,78	0,00	0,98
Tempo de UTI, dias	-0,06	0,83	0,03	0,91	0,27	0,34	-0,12	0,66	-0,13	0,67	-0,14	0,62	-0,23	0,47	-0,36	0,24
Tempo de internação, dias	0,40	0,89	0,23	0,43	-0,14	0,61	-0,30	0,29	-0,05	0,85	0,05	0,85	-0,13	0,67	-0,00	0,99
Tempo da cirurgia, minutos	0,01	0,95	-0,04	0,87	-0,32	0,26	0,16	0,57	-0,30	0,30	-0,20	0,51	-0,22	0,49	0,29	0,35
Tempo de CEC, minutos	0,00	0,97	-0,10	0,72	-0,02	0,94	0,03	0,91	-0,11	0,69	-0,28	0,36	-0,14	0,64	0,21	0,50

(r): Valor do coeficiente de correlação. SPO₂: Saturação periférica de oxigênio. IL-10: Interleucina-10. BDNF: Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro. TNF-alfa: Fator de Necrose Tumoral Alfa. VEGFR-1: Receptor 1 do Fator de Crescimento Endotelial Vascular

FIGURAS

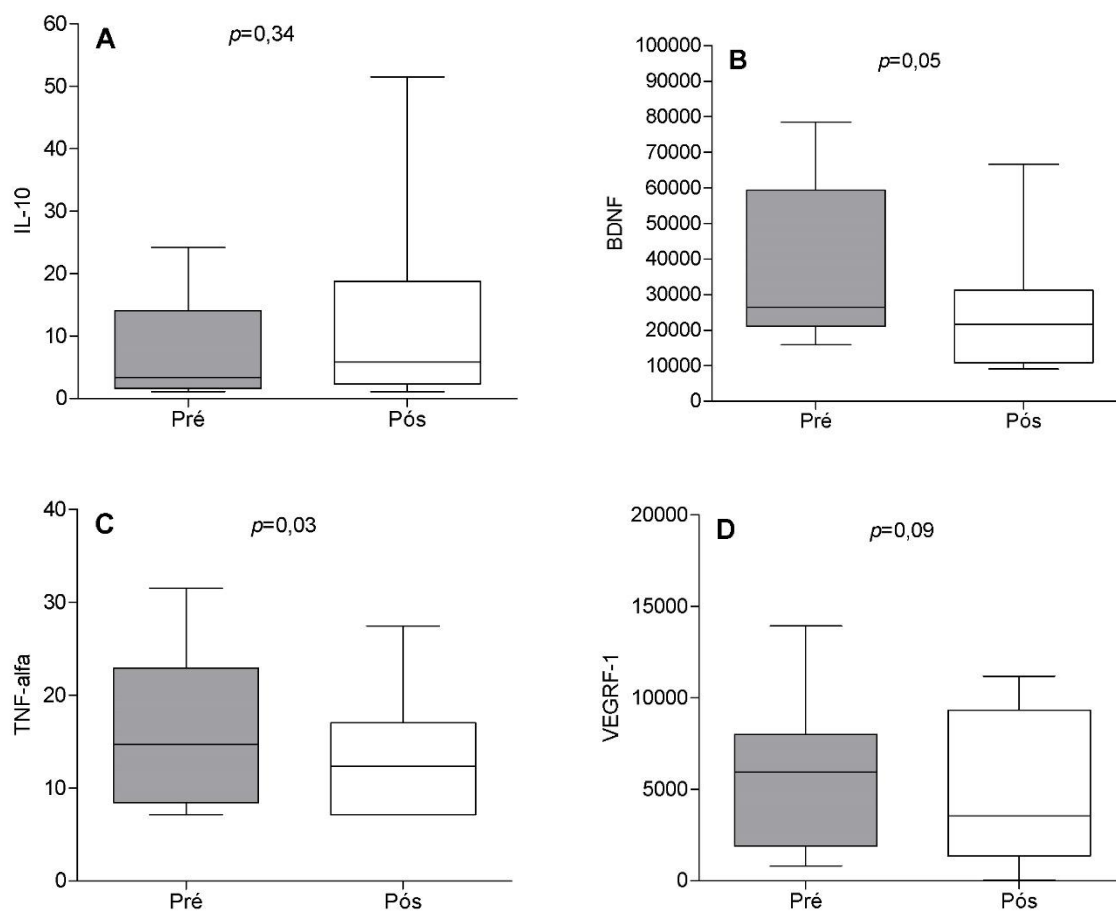


Figura 1. Comparação dos resultados da IL-10 (A) (pré-cirurgia: 3,34 (1,63 – 14,06) vs. pós-cirurgia: 5,84 (2,37 – 18,73); $p=0,34$), **(B) BDNF** (pré-cirurgia: 26509,82 (21089,14 – 59389,08) vs. pós-cirurgia: 21654,37 (10846,57 – 31287,41); $p=0,05$), **(C) TNF-alfa** (pré-cirurgia: 17,67 (8,42 – 22,91) vs. pós-cirurgia: 12,20 (7,12 – 16,43); $p=0,03$) e **(D) VEGFR-1** (pré-cirurgia: 5926,89 (1890,07 – 7998,58) vs. pós-cirurgia: 2106,11 (687,44 – 4485,63); $p=0,09$).

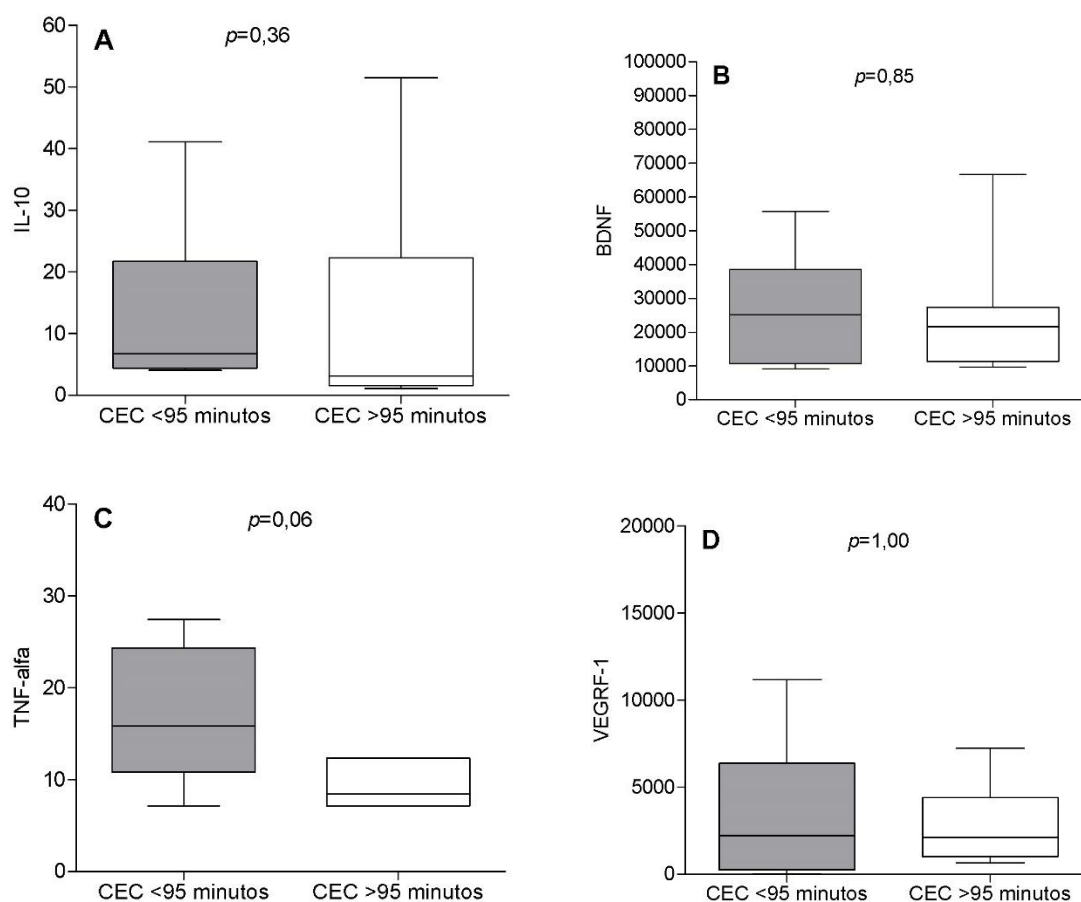


Figura 2. Comparação dos resultados da IL-10 pós-cirurgia (A) (CEC <95 minutos: 6,72 (4,39 – 21,69) vs. CEC>95 minutos: 3,11 (1,59 – 22,23); $p=0,36$), (B) BDNF pós-cirurgia (CEC <95 minutos: 25132,22 (10675,57 – 38522,20) vs. CEC>95 minutos: 21654,37 (11357,22 – 27314,81); $p=0,85$), (C) TNF-alfa pós-cirurgia (CEC <95 minutos: 15,84 (10,83 – 24,32) vs. CEC>95 minutos: 8,42 (7,12 – 12,33); $p=0,06$) e do VEGFR-1 pós-cirurgia e (D) (CEC <95 minutos: 2206,72 (247,51 – 6380,16) vs. CEC>95 minutos: 2106,11 (1006,44 – 4403,44); $p=1,00$).

7 DISCUSSÃO

No presente estudo, avaliamos biomarcadores de hipóxia numa amostra de crianças e adolescentes com cardiopatia congênita e submetidos a cirurgia cardíaca. Observamos queda significativa dos níveis de BDNF e TNF-alfa nos pós-operatório e aumento de IL-10 nos pacientes que desenvolveram sepse como complicação do procedimento cirúrgico. Não observamos correlação entre os marcadores pré-operatórios e prognóstico dos pacientes. Todos os pacientes foram submetidos a avaliação do exame neurológico tradicional e exame neurológico evolutivo no período pré-operatório. Foi possível observar que a maioria já apresentava anormalidades em ambas as avaliações, mesmo nunca tendo sido submetido a nenhum tipo de procedimento cirúrgico. Percebeu-se que quanto mais cianótica a cardiopatia, mais atraso do desenvolvimento neuropsicomotor o paciente apresentava. Aliás, muito se discute, na literatura científica, sobre o impacto da doença cardíaca congênita na arquitetura cerebral e no desenvolvimento neuropsicomotor. Os sistemas cardiovascular e neurológico estão intimamente conectados durante o desenvolvimento. Dada a interconectividade entre esses dois sistemas, quando um deles sofre alterações patológicas, o outro é igualmente afetado. Inúmeros estudos têm mostrado que os indivíduos com cardiopatia congênita estão em risco para atraso do desenvolvimento neuropsicomotor, que está relacionado à combinação de imaturidade e lesões cerebrais adquiridas⁶¹. Atualmente, é sabido que existe um risco contínuo de mortalidade e morbidade, em particular, as incapacidades motora e cognitiva, que representam as complicações mais comuns a longo prazo e as com maior impacto negativo na qualidade de vida, performance acadêmica e na oportunidade de vida adulta independente⁶². Ainda no útero, o cardiopata já está sofrendo injúria cerebral, em função da repercussão sistêmica das malformações⁶³.

Não foram encontradas relações estatisticamente significativas entre os níveis de biomarcadores pré-operatórios e as variáveis estudadas. Contudo, antes da cirurgia, hipóxia crônica, acidose, desnutrição, perfusão cerebral inadequada resultante da instabilidade hemodinâmica, anomalias cromossômicas, disgenesias cerebrais são os principais fatores de mau prognóstico⁶⁴. Durante o procedimento, o dano hipóxico-isquêmico pode ser resultado de perfusão e metabolismo cerebral inadequados, alterações de temperatura e embolia cardiogênica. No pós-operatório, são a parada cardiorrespiratória, infecção, arritmias e outros fatores adicionam risco de lesão cerebral.

Em relação ao tempo de CEC, constatou-se que quanto maior, também maior o pico de TNF-alfa no pós-operatório, embora não se tenha obtido uma relação estatisticamente significativa. Ademais, quanto maior o tempo total de cirurgia e de internação, independentemente da concentração dos biomarcadores, piores os desfechos clínicos e neurológicos. A circulação extracorpórea desencadeia uma resposta inflamatória que provoca queda da pressão arterial, aumento da frequência cardíaca e temperatura corporal, leucocitose e edema tecidual. Esses fenômenos são acompanhados pela ativação do sistema citocina, incluindo interleucina 6 (IL-6), IL-10, receptor de IL-2 (IL-2r), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e um aumento da liberação de moléculas de adesão, que são biomarcadores importantes em várias doenças⁶⁵. A cirurgia cardíaca em si desencadeia um processo inflamatório sistêmico complexo. A cascata inflamatória contribui para complicações pós-operatórias tais como insuficiência respiratória, disfunção renal, hepática, disfunção neuropsicológica e, em alguns casos, falência múltipla dos órgãos.

Na literatura, em pacientes com doença cardíaca congênita cianótica, aumento dos níveis séricos do fator de crescimento endotelial são proporcionais ao grau de cianose⁶⁶. Todavia, não foram encontradas, no estudo, as mesmas relações entre concentração de VGEFR-1 e o grau de cianose. Por outro lado, quantidades notáveis de neovascularização se desenvolvem em pacientes com cardiopatia cianótica congênita, que possui baixo fluxo sanguíneo pulmonar e cianose sistêmica. A neovascularização nesses pacientes tem um papel compensatório na hipóxia sistêmica e pode ser importante para a sobrevivência de órgãos. Foi observada uma desregulação geral da angiogênese com predomínio de um ambiente antiangiogênico no tecido cerebral de fetos com cardiopatia congênita, sugerindo que esses fetos podem ter um comprometimento angiogênico intrínseco que poderia contribuir para a perfusão cerebral prejudicada e o desenvolvimento neurológico anormal mais tarde na vida. A soma de malformações na arquitetura astrocitária e comprometimento da microcirculação cerebral são os principais fatores de baixa oxigenação cerebral nos pacientes com cardiopatia congênita⁶⁷.

O BDNF tem um papel protetor nas lesões hipóxico-isquêmicas e, assim como em outras pesquisas, verificou-se que seus níveis caem significativamente no pós-operatório, tornando o paciente mais vulnerável a danos cerebrais. Estudo recente com ressonância magnética de crânio, utilizando um método integrado, intraútero, com

imagens 2D e 3D, através de medições dos volumes dos diferentes compartimentos cerebrais, em fetos com cardiopatia congênita, demonstrou uma alta taxa de anormalidades estruturais no cérebro que não são diagnosticadas na ecografia e reduções estatisticamente significativas do parênquima, dos ventrículos e do volume total cerebral⁶⁸. Outro estudo utilizou ressonância magnética integrada e espectroscopia e evidenciou a existência reduções morfológicas subcorticais (talâmicas e cerebelares) que alteraram o metabolismo da substância branca cerebral em recém-nascidos prematuros e a termo com cardiopatia congênita⁶⁹. Essas reduções morfológicas subcorticais foram associadas a alterações globais nos metabólitos da maturação cerebral⁷⁰. Pacientes com anatomia ventricular única submetidos a anastomoses cavopulmonares e pacientes com tetralogia de Fallot podem desenvolver um aumento do volume ventricular cerebral⁷¹. O aumento do percentil do perímetro cefálico dos pacientes com anatomia ventricular única aparentemente argumenta contra a perda de volume secundária a insultos isquêmicos⁷². Dessa forma, é possível que a cardiopatia, além da CEC, acarrete em níveis mais baixos de BDNF circulante, predispondo a mais lesões anóxicas, redução do volume cerebral, bem como hidrocefalia. À vista disso, os mesmos mecanismos que reduzem as concentrações do BDNF em cardiopatas, deve contribuir também com o risco mais elevado que esses pacientes têm de acidente vascular cerebral isquêmico. Por isso, é imprescindível uma avaliação neurológica desses pacientes e a diferenciação entre hidrocefalia e ventriculomegalia de outras etiologias, principalmente porque estudos recentes identificaram que associação da cardiopatia com outras comorbidades aumenta o risco de falha do shunt e de fracasso no pós- operatório.

Demonstrou-se um aumento expressivo de IL-10 no pós-operatório e uma relação estatisticamente significativa entre a concentração desse biomarcador e a ocorrência de sepse, o que já foi visto em vários outros estudos. Esse achado está diretamente relacionado à indução da SIRS. A elevação dos biomarcadores inflamatórios após cirurgia cardíaca são fatores que promovem a SIRS. Essa elevação está relacionada principalmente à interação dos componentes do sangue com as superfícies artificiais das máquinas da CEC, bem como com trauma cirúrgico e reperfusão. A reação inflamatória que é desencadeada não é específica para infecção ou não infecção e pode ser o “start” para um processo de sepse que tem alta mortalidade e também piora o prognóstico neurológico. Então, quanto maior a resposta inflamatória no perioperatório, pior o prognóstico global do paciente. Além disso, não há diferença entre o estado de estresse

oxidativo nos pacientes com cardiopatia congênita cianótica e acianótica e a população saudável e esse estresse não se altera após cirurgia cardíaca⁷³. Um tempo de reperfusão e resfriamento menor na CEC poderia reduzir a resposta inflamatória global. O aumento nos níveis de proteína C-reativa pode ser devido ao estresse em si⁷⁴. A duração da CEC constitui um fator de risco para SIRS. A CEC tem duas fases de resposta inflamatória distintas.

A fase precoce é desencadeada pelo contato do sangue com a máquina que ativa a resposta humoral e celular, liberando citocinas. A fase tardia é desencadeada pela reperfusão e de endotoxemia, levando ao dano endotelial e alteração da microcirculação. A cascata inflamatória consequente a esse processo de SIRS afeta múltiplos órgãos e é o principal fator determinante da morbimortalidade dos pacientes com doença cardíaca congênita⁷⁵.

O estudo tem uma série de limitações, uma vez que não foram realizados exames de imagem nem eletroencefalograma no pré-operatório para melhor estabelecer as alterações neurológicas prévias. Contudo, trata-se de uma população que apresenta risco anestésico importante e muitos dos procedimentos cirúrgicos acontecem em caráter de urgência, limitando a execução desses exames. Os procedimentos de avaliação neurológica pré-operatória com auxílio de exames complementares, a monitorização neurológica intra-operatória com doppler, monitorização com eletroencefalograma contínuo no pós-operatório imediato, reavaliação neurológica pós-operatória com novos exames de imagem e reabilitação precoce fariam parte de um protocolo ideal de manejo neurológico dos cardiopatas.

Por fim, o BDNF faz parte do grupo das neurotrofinas e estaria envolvido numa espécie de interface entre os sistemas imunológico e neurológico⁷⁶. Em particular, evidências crescentes indicam que alguns dos membros mais potentes da família das neurotrofinas, por exemplo, o fator de crescimento do nervo (NGF) e o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), atuam ou são produzidos pelas células imunes. Permitem que os dois sistemas se comuniquem e, eventualmente, podem fornecer uma explicação molecular para a inflamação após lesão do SNC. Em princípio, as reações inflamatórias podem ser neuroprotetoras, bem como neurotóxicas⁷⁷. O conceito de imunidade neuroprotetora tem profundas implicações para determinar a patogênese e o tratamento de doenças neurológicas nas quais o sistema imune está envolvido, especialmente

doenças inflamatórias, como a esclerose múltipla (EM), mas também certas desordens neurodegenerativas⁷⁸. O BDNF, que se pensava ser principalmente expresso no sistema nervoso, pode ser produzido, essencialmente, por todos os principais tipos de células do sistema imunitário periférico humano, incluindo linfócitos T CD4 e CD8, linfócitos B e monócitos *in vitro*⁷⁹. Além disso, a produção de BDNF foi demonstrada na infiltração de células imunes *in situ* em modelos experimentais de lesão do SNC e inflamação das vias aéreas. Então, talvez a queda de interleucinas e da imunidade também se correlacione diretamente com a queda do BDNF e maior facilidade de apresentar lesões isquêmicas.

Os biomarcadores vem demonstrando que existem conexões entre o sistema imunológico e a fisiologia de todos os outros sistemas, bem como o SNC. Muitas células autoimunes podem expressar as neurotrofinas. Para o entendimento do significado desses biomarcadores nas lesões cerebrais isquêmicas e/ou inflamatórias, é indispensável se compreender a balança de equilíbrio fisiológico entre os fatores de neuroproteção e de neurodegeneração⁸⁰. As interleucinas, dentre elas a IL-10, e TNF-alfa estariam no grupo pró-inflamatório ou de destruição, em contrapartida o BDNF e o VEGFR-1 fariam parte do grupo dos antiinflamatórios ou neuroprotetores⁷⁸.

A CEC coloca um peso maior no lado dos fatores pró-inflamatórios, fazendo com que essa balança se desvie para a neurodestruição. A fim de minimizar o dano neurológico dos procedimentos cirúrgicos cardíacos de alta complexidade, é imprescindível estudos que identifiquem uma maneira eficiente de reduzir ou extinguir o tempo de CEC ou maneiras de estimular a expressão dos neuroprotetores, fazendo com que a balança penda para o lado da neuroproteção.

8 CONCLUSÃO

Observou-se que desfecho neurológico pós-operatório parece ser multifatorial e depende da interação de fatores pré-operatórios, intra-operatórios e pós-operatórios. Os níveis pré-operatórios de IL- 10, VGEFR-1, BDNF e TNF-alfa não estão diretamente relacionados com nenhuma das variáveis pesquisadas. Existe uma queda dos níveis de TNF-alfa e BDNF no pós-operatório que demonstra a maior vulnerabilidade imunológica e neurológica dos pacientes nesse período, evidenciando que a cascata inflamatória desencadeada pelo procedimento cirúrgico está envolvida nos processos de sepse e de complicações neurológicas. Aliás, é explícito que muitos pacientes já apresentavam alterações de exame neurológico e desenvolvimento neuropsicomotor mesmo antes de qualquer procedimento, principalmente aqueles com as saturações periféricas de oxigênio mais baixas, deixando claro que a própria cardiopatia congênita deve implicar em alterações cerebrais relevantes. Ademais, o aumento dos níveis de IL-10 no pós-operatório relaciona-se, especificamente, com uma maior ocorrência de sepse. Além disso, pode-se inferir que quanto maior o tempo de circulação extracorpórea e de cirurgia, pior o desfecho clínico dos pacientes. Por fim, sobressai-se a importância de submeter o paciente com cardiopatia congênita a avaliações neurológicas periódicas, mesmo que não exista um planejamento cirúrgico bem definido e, de forma precoce, sempre que necessário, encaminhá-lo para reabilitação multiprofissional

9 REFERÊNCIAS

1. Coskun, Volkan, and Dawn M. Lombardo. "Studying the pathophysiologic connection between cardiovascular and nervous systems using stem cells." *Journal of neuroscience research* 94.12 (2016): 1499-1510.
2. Ramos, A. P., Oliveira, M. D., & Cardoso, J. P. (2008). Prevalência de malformações congênitas em recém-nascidos em hospital da rede pública. *Rev Saude Com*, 4(1), 27-42.
3. Harbison, Anna Lonyai, et al. "Clinical Factors Associated with Cerebral Metabolism in Term Neonates with Congenital Heart Disease." *The Journal of pediatrics* 183 (2017): 67-73.
4. Aly, Safwat A., et al. "Cerebral tissue oxygenation index and lactate at 24 hours postoperative predict survival and neurodevelopmental outcome after neonatal cardiac surgery." *Congenital heart disease* 12.2 (2017): 188-195.
5. Menache, Caroline C., et al. "Current incidence of acute neurologic complications after open-heart operations in children." *The Annals of thoracic surgery* 73.6 (2002): 1752-1758.
6. Gaynor, J. William. "The encephalopathy of congenital heart disease." *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 148.5 (2014): 1790-1791.
7. McDonagh, David L., et al. "Neurological complications of cardiac surgery." *The Lancet Neurology* 13.5 (2014): 490-502.
8. Limperopoulos, Catherine, et al. "Predictors of developmental disabilities after open heart surgery in young children with congenital heart defects." *The Journal of pediatrics* 141.1 (2002): 51-58.
9. Dimitropoulos, Anastasia, et al. "Brain injury and development in newborns with critical congenital heart disease." *Neurology* 81.3 (2013): 241-248.
10. Limperopoulos, Catherine, et al. "Neurodevelopmental status of newborns and infants with congenital heart defects before and after open heart surgery." *The Journal of pediatrics* 137.5 (2000): 638-645.
11. Majnemer, Annette, et al. "A new look at outcomes of infants with congenital heart disease." *Pediatric neurology* 40.3 (2009): 197-204.
12. Hamrick, Shannon EG, et al. "Neurodevelopmental outcome of infants supported with extracorporeal membrane oxygenation after cardiac surgery." *Pediatrics* 111.6 (2003): e671-e675.
13. Kalyanaraman, Meena, et al. "Serial blood lactate levels as a predictor of mortality in children after cardiopulmonary bypass surgery." *Pediatric Critical Care Medicine* 9.3 (2008): 285-288.

14. Bellinger, David C., et al. "Developmental and neurological status of children at 4 years of age after heart surgery with hypothermic circulatory arrest or low-flow cardiopulmonary bypass." *Circulation* 100.5 (1999): 526-532.
15. Wernovsky, Gil. "Current insights regarding neurological and developmental abnormalities in children and young adults with complex congenital cardiac disease." *Cardiology in the Young* 16.S1 (2006): 92-104.
16. Lv, H., Wang, Q., Wu, S., Yang, L., Ren, P., Yang, Y., ... & Li, L. (2015). Neonatal hypoxic ischemic encephalopathy-related biomarkers in serum and cerebrospinal fluid. *Clinica Chimica Acta*, 450, 282-297.
17. Thomas, K., & Davies, A. (2005). Neurotrophins: a ticket to ride for BDNF. *Current Biology*, 15(7), R262-R264.
18. Chen, A. I., Xiong, L. J., Tong, Y. U., & Mao, M. (2013). The neuroprotective roles of BDNF in hypoxic ischemic brain injury. *Biomedical reports*, 1(2), 167-176.
19. Jin, K. L., Mao, X. O., & Greenberg, D. A. (2000). Vascular endothelial growth factor: direct neuroprotective effect in in vitro ischemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(18), 10242-10247.
20. Sun, F. Y., & Guo, X. (2005). Molecular and cellular mechanisms of neuroprotection by vascular endothelial growth factor. *Journal of neuroscience research*, 79(1-2), 180-184.
21. Xuan, S. H. I. (2006). LI Yan-zhi~ 2, WEI Jin-kai~(1a), DU Chang-jiang~(1a), CHOU Guang-cheng~(1b)(1a. Department of Pediatrics; 1b. Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Heibei University, Baoding 071000, China; 2. Department of Pediatrics, the Second Affiliated Hospital of Hebei Medical College, Shijiazhuang 050071, China); Dynamic Changes of Serum Levels of Vascular Endothelial Growth Factor in Newborn Infants with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy and Their Clinical Significance [J]. *Journal of Applied Clinical Pediatrics*, 12.
22. Wang, Y., Shi, C., & Ni, H. (2003). Investigation of serum interleukin-10 levels in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy and its clinical significance. *JOURNAL OF APPLIED CLINICAL PEDIATRICS*, 18, 442-442.
23. Ceccon, M. E. J. R. (2003). Interleukins in hypoxic-ischemic encephalopathy. *Jornal de pediatria*, 79(4), 280-281.
24. Andropoulos, Dean B., et al. "Neurological monitoring for congenital heart surgery." *Anesthesia & Analgesia* 99.5 (2004): 1365-1375.
25. Bembea, Melania M., et al. "Plasma biomarkers of brain injury as diagnostic tools and outcome predictors after extracorporeal membrane oxygenation." *Critical care medicine* 43.10 (2015): 2202-2211.
26. Mazzone, Annamaria, et al. "Correlation between inflammatory response and markers of neuronal damage in coronary revascularization with and without

-
- cardiopulmonary bypass." *Perfusion* 18.1 (2003): 3-8.
27. Cata, J. P., B. Abdelmalak, and E. Farag. "Neurological biomarkers in the perioperative period." *British journal of anaesthesia* 107.6 (2011): 844-858.
 28. Kramer, Peter, et al. "Prognostic value of serum biomarkers of cerebral injury in classifying neurological outcome after paediatric resuscitation." *Resuscitation* 122 (2018): 113-120.
 29. Pironkova, Rossitza P., et al. "Brain injury with systemic inflammation in newborns with congenital heart disease undergoing heart surgery." *Experimental and therapeutic medicine* 14.1 (2017): 228-238.
 30. Bembea, Melania M., et al. "Plasma biomarkers of brain injury as diagnostic tools and outcome predictors after extracorporeal membrane oxygenation." *Critical care medicine* 43.10 (2015): 2202-2211.
 31. Appachi, Elumalai, et al. "Perioperative serum interleukins in neonates with hypoplastic left-heart syndrome and transposition of the great arteries." *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia* 21.2 (2007): 184-190.
 32. Madhok, Ashish B., et al. "Cytokine response in children undergoing surgery for congenital heart disease." *Pediatric cardiology* 27.4 (2006): 408-413.
 33. Hammer, Stefanie, et al. "Interleukin-6 and procalcitonin in serum of children undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass." *Acta cardiologica* 59.6 (2004): 624-629.
 34. Brocca, A., et al. "Elevated Levels of Procalcitonin and Interleukin-6 are Linked with Postoperative Complications in Cardiac Surgery." *Scandinavian Journal of Surgery* 106.4 (2017): 318-324.
 35. Wang, Dandan, et al. "Elevated serum ghrelin, tumor necrosis factor- α and interleukin-6 in congenital heart disease." *Pediatrics International* 58.4 (2016): 259-264.
 36. Noori, Noor Mohammand, et al. "Serum Levels of Tumor Necrosis Factor- α and Interleukins in Children with Congenital Heart Disease." *The Journal of Tehran University Heart Center* 12.1 (2017): 15.
 37. Lin, Ze-Bang, et al. "Endothelial microparticles are increased in congenital heart diseases and contribute to endothelial dysfunction." *Journal of translational medicine* 15.1 (2017): 4.
 38. Ricci, Zaccaria, et al. "Evaluation of Endotoxemia After Pediatric Cardiac Surgery With the Endotoxin Activity Assay: An Exploratory Prospective Cohort Study." *Pediatric Critical Care Medicine* 17.2 (2016): e76-e80.
 39. Lequier, Laurance L., et al. "Preoperative and postoperative endotoxemia in children with congenital heart disease." *Chest* 117.6 (2000): 1706-1712.
-

-
40. Pirinccioglu, Ayfer Gözü, et al. "Evaluation of oxidative stress in children with congenital heart defects." *Pediatrics International* 54.1 (2012): 94-98.
 41. Seghaye, Marie-Christine, et al. "Interleukin-10 release related to cardiopulmonary bypass in infants undergoing cardiac operations." *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 111.3 (1996): 545-553.
 42. Desai, Nilesh K., et al. "White matter injury and the inflammatory response following neonatal cardiac surgery." *Pediatric cardiology* 36.5 (2015): 942-949.
 43. Zhang, Sai, et al. "Elevated serum levels of ghrelin and TNF- α in patients with cyanotic and acyanotic congenital heart disease." (2017): 122-128.
 44. Sethi, Brijindera Singh, et al. "Perioperative Levels of Tumor Necrosis Factor- α Correlate With Outcomes in Children and Adults With Tetralogy of Fallot Undergoing Corrective Surgery." *World Journal for Pediatric and Congenital Heart Surgery* 5.1 (2014): 38-46.
 45. Kagawa, Hiroshi, et al. "Inflammatory response to hyperoxemic and normoxemic cardiopulmonary bypass in acyanotic pediatric patients." *World Journal for Pediatric and Congenital Heart Surgery* 5.4 (2014): 541-545.
 46. Amanullah, Muhammad M., et al. "Effect of steroids on inflammatory markers and clinical parameters in congenital open heart surgery: a randomised controlled trial." *Cardiology in the Young* 26.3 (2016): 506-515.
 47. Li, Yi-ping, et al. "The compromised inflammatory response to bacterial components after pediatric cardiac surgery is associated with cardiopulmonary bypass-suppressed Toll-like receptor signal transduction pathways." *Journal of critical care* 29.2 (2014): 312-e7.
 48. Song, Shu-Tian, Chuan-Ming Bai, and Ji-Wu Zhou. "Serum TNF- α levels in children with congenital heart disease undergoing cardiopulmonary bypass: A cohort study in China and a meta-analysis of the published literature." *Journal of clinical laboratory analysis* 31.6 (2017).
 49. Ootaki, Yoshio, et al. "Vascular endothelial growth factor in children with congenital heart disease." *The Annals of thoracic surgery* 75.5 (2003): 1523-1526.
 50. Baghdady, Yasser, Yasser Hussein, and Mohamed Shehata. "Vascular endothelial growth factor in children with cyanotic and acyanotic and congenital heart disease." *Archives of medical science: AMS* 6.2 (2010): 221.
 51. Sánchez, Olga, et al. "Brain angiogenic gene-expression in congenital heart disease." *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* (2017).
 52. Suda, Kenji, et al. "Increased vascular endothelial growth factor in patients with cyanotic congenital heart diseases may not be normalized after a Fontan type operation." *The Annals of thoracic surgery* 78.3 (2004): 942-946.
-

53. Himeno, W., et al. "Increased angiogenic growth factor in cyanotic congenital heart disease." *Pediatric cardiology* 24.2 (2003): 127-132.
54. Sellke, Frank W., and Marc Ruel. "Vascular growth factors and angiogenesis in cardiac surgery." *The Annals of thoracic surgery* 75.2 (2003): S685-S690.
55. Sustar, A., et al. "A protective effect of the BDNF Met/Met genotype in obesity in healthy Caucasian subjects but not in patients with coronary heart disease." *European review for medical and pharmacological sciences* 20.16 (2016): 3417-3426.
56. Hang, Pengzhou, et al. "BDNF-mediates down-regulation of microRNA-195 inhibits ischemic cardiac apoptosis in rats." *International journal of biological sciences* 12.8 (2016): 979.
57. Fulgenzi, Gianluca, et al. "BDNF modulates heart contraction force and long-term homeostasis through truncated TrkB. T1 receptor activation." *J Cell Biol* 210.6 (2015): 1003-1012.
58. Zeng, Ni, et al. "Brain-Derived Neurotrophic Factor Attenuates Septic Myocardial Dysfunction via eNOS/NO Pathway in Rats." *Oxidative medicine and cellular longevity* 2017 (2017).
59. Lu, B., G. Nagappan, and Y. Lu. "BDNF and synaptic plasticity, cognitive function, and dysfunction." *Neurotrophic factors*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2014. 223-250.
60. Hing, Benjamin, Leela Sathyaputri, and James B. Potash. "A comprehensive review of genetic and epigenetic mechanisms that regulate BDNF expression and function with relevance to major depressive disorder." *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* (2017).
61. Heye, Kristina Nadine, et al. "Growth and Intellectual Abilities of Six-Year-Old Children with Congenital Heart Disease." *The Journal of pediatrics* 204 (2019): 24-30.
62. Graham, Eric M., et al. "Association of intraoperative circulating-brain injury biomarker and neurodevelopmental outcomes at 1 year among neonates who have undergone cardiac surgery." *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* (2019).
63. Miller, Steven P., et al. "Abnormal brain development in newborns with congenital heart disease." *New England Journal of Medicine* 357.19 (2007): 1928-1938.
64. McQuillen, Patrick S., Donna A. Goff, and Daniel J. Licht. "Effects of congenital heart disease on brain development." *Progress in pediatric cardiology* 29.2 (2010): 79-85.
65. Haponiuk, Ireneusz, et al. "Postoperative kinetics of common inflammatory biomarkers after congenital heart defect procedures with extracorporeal circulation in children." *Kardiologia Polska (Polish Heart Journal)* 76.6 (2018):

-
- 968-973.
66. Haponiuk, Ireneusz, et al. "Postoperative kinetics of common inflammatory biomarkers after congenital heart defect procedures with extracorporeal circulation in children." *Kardiologia Polska (Polish Heart Journal)* 76.6 (2018): 968-973.
 67. Claessens, Nathalie HP, et al. "Neuroimaging, cardiovascular physiology, and functional outcomes in infants with congenital heart disease." *Developmental Medicine & Child Neurology* 59.9 (2017): 894-902.
 68. Griffiths, Paul D., et al. "An integrated in utero MR method for assessing structural brain abnormalities and measuring intracranial volumes in fetuses with congenital heart disease: results of a prospective case-control feasibility study." *Neuroradiology* (2019): 1-9.
 69. Ortinau, Cynthia M., et al. "Prenatal to postnatal trajectory of brain growth in complex congenital heart disease." *NeuroImage: Clinical* 20 (2018): 913-922.
 70. Gertsvolf, Nina, et al. "Association between Subcortical Morphology and Cerebral White Matter Energy Metabolism in Neonates with Congenital Heart Disease." *Scientific reports* 8 (2018).
 71. Rajagopalan, Vidya, et al. "Fetuses with single ventricle congenital heart disease manifest impairment of regional brain growth." *Prenatal diagnosis* 38.13 (2018): 1042-1048.
 72. Ackerman, Laurie L., et al. "Alterations in cerebral ventricle size in children with congenital heart disease." *Child's Nervous System* 34.11 (2018): 2233-2240.
 73. Altin, Firat H., et al. "Alterations in antioxidant and oxidant status of children after on-pump surgery for cyanotic and acyanotic congenital heart diseases." *Cardiology in the Young* 27.2 (2017): 325-332.
 74. Pironkova, Rossitza P., et al. "Brain injury with systemic inflammation in newborns with congenital heart disease undergoing heart surgery." *Experimental and therapeutic medicine* 14.1 (2017): 228-238.
 75. Boehne, Martin, et al. "Systemic inflammatory response syndrome after pediatric congenital heart surgery: Incidence, risk factors, and clinical outcome." *Journal of cardiac surgery* 32.2 (2017): 116-125.
 76. Sanchez-de-Toledo, Joan, et al. "Cerebral regional oxygen saturation and serum neuromarkers for the prediction of adverse neurologic outcome in pediatric cardiac surgery." *Neurocritical care* 21.1 (2014): 133-139.
 77. Zou, Rongjun, et al. "Neurocardiology: cardiovascular changes and specific brain region infarcts." *BioMed research international* 2017 (2017).
 78. Kerschensteiner, Martin, et al. "Neurotrophic cross-talk between the nervous and immune systems: implications for neurological diseases." *Annals of Neurology*:
-

Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society 53.3 (2003): 292-304.

79. Hohlfeld, Reinhard. "Neurotrophic cross-talk between the nervous and immune systems: relevance for repair strategies in multiple sclerosis?." *Journal of the neurological sciences* 265.1-2 (2008): 93-96.
80. Beck, Thomas, et al. "Brain-derived neurotrophic factor protects against ischemic cell damage in rat hippocampus." *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 14.4 (1994): 689-692.
-

ANEXOS

ANEXO 1 – APROVAÇÃO CEP

HOSPITAL DA CRIANÇA
SANTO ANTÔNIO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Marcadores séricos de lesão cerebral como ferramentas diagnósticas de danos neurológicos em cardiopatas submetidos a circulação extracorpórea

Pesquisador: Fernanda Silveira de Quadros

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 93980318.3.0000.5683

Instituição Proponente: Hospital da Criança Santo Antônio - Santa Casa/RS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.056.279

Apresentação do Projeto:

Marcadores séricos de lesão cerebral como ferramentas diagnósticas de danos neurológicos em cardiopatas submetidos a avaliação extracorpórea.

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO GERAL

Determinar a dosagem dos biomarcadores (interleucina-6, interleucina-10, fator neurotrófico derivado do cérebro ou BDNF, fator de crescimento endotelial ou VEGF e fator de necrose tumoral ou TNF) em sangue periférico de pacientes com cardiopatia congênita, nos períodos pré e pós-operatórios.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Relacionar os níveis de biomarcadores pré-operatórios com o grau de cianose do paciente, saturação basal, estado clínico e desenvolvimento neuropsicomotor;
- Relacionar os níveis dos biomarcadores pré e pós-operatórios com o desfecho clínico e neurológico;
- Relacionar os níveis de biomarcadores pós-operatórios com o tempo de CEC e intercorrências transoperatórias;
- Comparar os níveis pré e pós-operatórios de biomarcadores e estado neurológico em ambos os

Endereço: Av. Independência, 155

Bairro: INDEPENDENCIA

CEP: 90.035-074

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3214-8997

Fax: (51)3214-8997

E-mail: cephcsa@santacasa.tche.br

HOSPITAL DA CRIANÇA SANTO ANTÔNIO



Continuação do Parecer: 3.056.279

momentos

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Adequados.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

As solicitações foram atendidas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O termo de assentimento foi modificado e poderia ser ainda mais adequado a faixa etária.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As solicitações foram atendidas.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1105622.pdf	01/11/2018 08:29:57		Aceito
Outros	termodeassentimento.pdf	01/11/2018 08:27:09	Fernanda Silveira de Quadros	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	BROCHURACORRIGIDAFINAL2.pdf	01/11/2018 08:26:45	Fernanda Silveira de Quadros	Aceito
Outros	pendencias.odt	22/10/2018 10:38:00	Fernanda Silveira de Quadros	Aceito
Cronograma	cronograma.pdf	22/10/2018 09:10:15	Fernanda Silveira de Quadros	Aceito
Outros	cartaresposta.pdf	04/09/2018 16:45:40	Fernanda Silveira de Quadros	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	consetimento.pdf	03/09/2018 10:39:57	Fernanda Silveira de Quadros	Aceito
Outros	isencaodeonus.pdf	10/07/2018 16:46:31	Fernanda Silveira de Quadros	Aceito
Outros	prontuarios.pdf	10/07/2018 16:46:07	Fernanda Silveira de Quadros	Aceito
Outros	confidencialidade.pdf	10/07/2018 16:45:17	Fernanda Silveira de Quadros	Aceito
Declaração de	materialbio.pdf	10/07/2018	Fernanda Silveira	Aceito

Endereço: Av. Independência, 155

Bairro: INDEPENDENCIA

CEP: 90.035-074

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3214-8997

Fax: (51)3214-8997

E-mail: cepchsa@santacasa.tche.br

HOSPITAL DA CRIANÇA
SANTO ANTÔNIO



Continuação do Parecer: 3.056.279

Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	materialbio.pdf	16:44:38	de Quadros	Aceito
Outros	ferquadrosCHEFEDOSITOR.pdf	18/06/2018 17:13:06	Fernanda Silveira de Quadros	Aceito
Outros	ferquadrosAP.pdf	18/06/2018 17:12:30	Fernanda Silveira de Quadros	Aceito
Outros	ferquadrosANUENCIA.pdf	18/06/2018 17:12:19	Fernanda Silveira de Quadros	Aceito
Folha de Rosto	ferquadros3.pdf	24/05/2018 10:28:08	Fernanda Silveira de Quadros	Aceito
Outros	ferquadrosinscric2134.pdf	21/05/2018 15:10:16	Fernanda Silveira de Quadros	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 04 de Dezembro de 2018

Assinado por:
Catiane Zanin Cabral
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Independência, 155

Bairro: INDEPENDENCIA

CEP: 90.035-074

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3214-8997

Fax: (51)3214-8997

E-mail: cephcsa@santacasa.tche.br

ANEXO 2 – ESCALA BRUNET-LEZINE (Brunet O, Lézine I. Desenvolvimento psicológico da primeira infância. Porto Alegre: Artes Médicas; 1981)

Primeiro Mês

- P1: **levanta a cabeça de tempos em tempos**, se colocado na posição sentada;
P2: deitado em decúbito ventral, levanta a cabeça de tempos em tempos, vacilando;
P3: deitado em decúbito ventral, faz movimentos de **reptação**;
C4: **reage ao barulho** da campainha;
C5: **segue** espontaneamente com o olhar o **anel** num ângulo de **90°**;
S6: fixa seu olhar no rosto do examinador.

Questões

- P7: aperta fortemente o dedo que se lhe introduz na mão;
L8: emite **sons guturais**;
S9: cessa de chorar, quando se lhe aproxima ou quando se lhe fala;
S10: começa uma reação de sucção antecipada no momento da mamada.

Terceiro Mês

- P1: **mantém a cabeça bem firme** em posição sentada;
P2: deitado em decúbito ventral, apóia-se sobre os antebraços;
C3: olha um cubo colocado sobre a mesa;
C4: **mantém firmemente o chocalho, sacode-o** com um movimento brusco involuntário;
C5: vira a cabeça para seguir com o olhar um objeto que desaparece lentamente;
S6: **sorri**, respondendo ao sorriso do examinador.

Questões

- P7: agarra seu lençol, leva-o em direção a si;
L8: **tagarela**: vocalização prolongada;
S9: anima-se à vista da mamadeira ou aos preparativos da mamada;
S10: **brinca com as mãos, examina-as**.
-

Sexto Mês

- P1: mantido verticalmente, suporta uma parte do seu corpo;
P2: deitado em decúbito dorsal, desfaz-se do pano colocado em sua cabeça;
C3: levanta o cubo colocado na mesa;
C4: **mantém dois cubos, um em cada mão e olha o terceiro;**
C5: sentado, pega com uma mão o anel que se movimenta diante dele;
C6: bate sobre a mesa ou a esfrega com uma colher.

Questões

- P7: **pode ficar sentado com apoio por um longo período;**
L8: faz engroladas;
S9: **pega os pés com as mãos;**
S10: **faz distinção entre rostos familiares e estranhos.**

Nono Mês

- P1: **mantém-se de pé com apoio;**
P2: sentado, sem apoio, desfaz-se do pano colocado na sua cabeça;
C3: levanta a xícara virada e pega o cubo escondido;
C4: pega a pastilha entre o polegar e o indicador;
C5: atrai o anel em sua direção, usando a fita;
C6: **faz soar a campainha.**

Questões

- P7: **mantido sobre os braços, faz movimentos de marcha;**
L8: **verbaliza uma palavra de duas sílabas;**
S9: reage a certas palavras familiares;
S10: **faz gestos com significação: dá ordens.**

12º Mês – Um ano

- P1: **caminha com ajuda, quando se lhe dá a mão;**
C2: pega o terceiro cubo, mantendo os dois que já tinha;
C3: solta um cubo dentro da xícara;
C4: imita o barulho da colher na xícara;
-

C5: **recoloca a forma redonda no buraco do tabuleiro;**

C6: **faz uma garatuja débil depois de demonstração.**

Questões

P7: parado, abaixa-se para pegar um brinquedo;

L8: **fala 3 palavras;**

S9: entrega um objeto sob ordem ou gesto;

S10: repete atos que provocaram risos.

15º Mês

P1: **caminha só;**

C2: constrói uma torre de 2 cubos;

C3: enche a xícara com cubos;

C4: introduz a pastilha no frasco;

C5: coloca sob comando a forma redonda no buraco do tabuleiro;

C6: faz uma garatuja sob comando.

Questões

P7: **sobe uma escada, de quatro;**

L8: **fala 5 palavras;**

S9: aponta com o dedo o que deseja, pedindo-o;

S10: **bebe sozinho com eficiência.**

18º mês

P1: **chuta com o pé, uma bola;**

C2: **constrói uma torre de 3 cubos;**

C3: **vira as páginas de um livro;**

C4: retira imediatamente a pastilha do frasco;

C5: adapta-se ao giro da prancha para o bloco redondo;

L6: **nomeia uma imagem ou mostra 2 imagens.**

Questões

P7: **sobe a escada de pé se segurado pela mão;**

L8: **fala, pelo menos, 8 palavras;**

S9: **serve-se com a colher;**

S10: **pede seu pinico e pode conter-se.**

21º mês

P1: chuta uma bola sob demonstração;

C2: **constrói uma torre de 5 cubos;**

C3: alinha os cubos para imitar o trem;

C4: coloca sob comando os cubos em 3 lugares diferentes;

C5: **coloca a forma quadrada no buraco correspondente do tabuleiro;**

L6: **mostra 5 partes do corpo na imagem da boneca.**

Questões

P7: **desce a escada, seguro pela mão;**

L8: associa duas palavras;

L9: **pede para comer e beber;**

S10: imita ações simples do adulto.

24º mês

P1: chuta a bola sob comando;

C2: **constrói uma torre de 6 cubos, no mínimo;**

C3: tenta dobrar uma vez uma folha de papel;

C4: imita um traço;

C5: **coloca as 3 formas no tabuleiro;**

L6: nomeia 2 ou mostra 4 imagens.

Questões

P7: **sobe e desce escadas sem ajuda;**

L8: **forma frases de várias palavras;**

L9: **nomeia-se a si mesmo pelo prenome;**

S10: ajuda a arrumar suas coisas.

30º mês

- P1: **trata de ficar sobre um pé só;**
C2: **constrói uma torre de 8 cubos;**
C3: constrói uma ponte, a partir de um modelo, com 3 cubos;
C4: imita um traço vertical e horizontal;
C5: adapta-se ao giro do tabuleiro para as 3 formas;
L6: **nomeia 5 ou mostra 7 imagens.**

Questões

- P7: pode levar um copo cheio de água sem derrubá-lo;
L8: **emprega o pronome “eu”;**
S9: **bota seus sapatos;**
S10: **permanece seco durante a noite.**
-

ANEXO 3 – LEFÈVRE (Lefèvre AB. Exame neurológico evolutivo do pré-escolar normal. São Paulo: Sarvier, 1972.)

Lefèvre 3 anos	
Equilíbrio Estático	Posição de Romberg, olhos abertos por 30"
Equilíbrio Dinâmico	Andar em linha reta por 5m Andar para trás puxando um carrinho, por 5m Subir e descer escadas sem apoio Correr contornando obstáculos Apanhar um objeto do chão, sem auxílio da outra mão
Coordenação Apendicular	Construir uma torre com 9 cubos ou mais Copiar um traço vertical de um modelo Jogar uma bola por cima, na direção do examinador Manobra índex-nariz com os olhos abertos Chutar uma bola (anotar o pé escolhido)
Coordenação Tronco-Membros	Não há provas
Sincinesias-Gnosias	Presentes em todas as provas
Persistência Motora	Não há provas

Lefèvre 4 anos

Equilíbrio Estático	Posição de Romberg, olhos fechados por 30"
Equilíbrio Dinâmico	Andar na ponta dos pés por 5m Subir e descer escada sem apoio, alternando os pés
Coordenação Apendicular	Virar páginas de um livro eumetricamente Copiar uma cruz do cartão Manobra index-nariz com os olhos fechados Fazer uma bolinha de papel com a mão dominante Enrolar um fio em um carretel na posição parada, de pé
Coordenação Tronco-Membros	Não há provas
Sincinesias-Gnosias	Presentes em todas as provas
Persistência Motora	Manter os olhos fechados por 20" Manter a boca aberta por 40" Manter a língua protusa com os olhos abertos por 40"

Lefèvre 5 anos

Equilíbrio Estático	De pé, apoio plantar com a ponta de um pé encostada no calcanhar do outro, com os olhos abertos por 10"
Equilíbrio Dinâmico	Andar para a frente colocando o calcanhar de um pé encostado na ponta do outro, por 2m Saltar uma corda de 30cm de altura, estando correndo Saltar corda de 30cm de altura, estando parado com os pés juntos Saltar girando sobre si mesmo, sem desviar do lugar Deslocar-se 5m pulando com os 2 pés juntos Deslocar-se 5m pulando num pé só. Deixar escolher o pé Dar um salto para um lado. Ficar parado depois do salto
Coordenação Apendicular	Copiar um círculo ou um quadrado do cartão Jogar uma bola de tênis, por cima, em um alvo na distância de 2m Sentado, bater com os pés, alternadamente, num ritmo escolhido Tocar com a ponta do polegar em todos os dedos, nas duas mãos e nas duas direções Abrir uma mão e fechar a outra alternadamente. Membros superiores estendidos para a frente
Coordenação Tronco-membros	Não há provas
Sincinesias-Gnosias	Presentes em todas as provas
Persistência Motora	Manter a língua protusa com os olhos fechados por 40"

Lefèvre 6 anos

Equilíbrio Estático	De pé, apoio plantar. A ponta de um pé encostada no calcanhar do outro, de olhos fechados por 10"
Equilíbrio Dinâmico	Andar para trás, colocando o calcanhar de um dos pés encostado na ponta do outro, por 2m Deslocar-se 5m, pulando sobre um pé só com o pé não dominante
Coordenação Apendicular	Descrever um círculo com os dedos indicadores, estando com os braços estendidos horizontalmente para os lados Andando, enrolar a linha do carretel no dedo indicador da mão dominante Bater o indicador direito na mesa e o pé direito no chão, ao mesmo tempo, e alternadamente com os esquerdos
Coordenação Tronco-membros	De pé, o examinador força o tronco para trás e observa a flexão dos joelhos
Sincinesias-Gnosias	Presentes em todas as idades
Persistência Motora	Não há provas

Lefèvre 7 anos

Equilíbrio Estático	Parado, na ponta dos pés, braços caídos ao longo do corpo, pés juntos, olhos abertos por 30" Parado, apoio plantar sobre um pé só (deixar escolher o pé). Braços caídos ao longo do corpo, olhos abertos por 30" De pé, apoio plantar sobre um pé só (deixar escolher o pé), braços caídos, a outra perna fletida em ângulo reto, as coxas paralelas, olhos abertos por 10" Agachado, apoio na ponta dos pés, calcanhares unidos, membros superiores abertos lateralmente, olhos abertos por 10" Sentado, equilibrar uma régua horizontalmente no dedo indicador da mão escolhida por 10"
Equilíbrio Dinâmico	Pular o mais alto que puder. Bater palmas 2 vezes enquanto estiver com os pés fora do contato com o solo
Coordenação Apendicular	Copiar um losango de um cartão Repetir ritmos com intervalos variáveis, usando 2 lápis e anteparo de cartolina: ***; • •; ****; •• ••; • • • •; •• • •. Acertos: 4/6 Anotar disdiadococinesias na prova das marionetes com duas mãos.
Coordenação Tronco-membros	Sentar-se sem apoio, estando deitado e deitar-se sem apoio, estando sentado
Sincinesias-Gnosias	Presentes em todas as provas
Persistência Motora	Olhar extremo lateral para a direita por 30" Olhar extremo lateral para a esquerda por 30" Membros superiores horizontalmente para a frente. Dedos afastados. Polegares separados por 1 cm. Manter posição de olhos fechados por 30"

ANEXO 4 – EXAME EVOLUTIVO LOIS PICQ AND PIERRE VAYER DOS 7-11 ANOS (Picq, Lois, and Pierre Vayer. *Educação psicomotora e retardo mental: aplicação aos diferentes tipos de inadaptção*. Manole, 1985.)

Coordenação Dinâmica das Mãos

IDADE	DESCRIÇÃO
8 anos	Com a extremidade do polegar, tocar com maior rapidez possível, um após o outro, começando pelo dedo mínimo e retornando (5-4-3-2 / 2-3-4-5)
9 anos	Com auxílio de uma bola de plástico de 6 cm de diâmetro, atingir um alvo de 25x25 cm situado na altura do peito a 1,50 m de distância (lançamento com os braços flexionados, mãos perto do ombro, a perna do lado do lançamento para trás)
10 anos	A extremidade do polegar esquerdo sobre a extremidade do indicador direito e vice-versa. O indicador direito larga o polegar esquerdo e faz uma circunferência em torno indicador esquerdo, a fim de reuniu-se ao polegar esquerdo enquanto o indicador esquerdo não abandona o polegar direito. Em seguida, o indicador esquerdo larga o polegar direito, descreve uma circunferência em torno do indicador direito sobre o polegar esquerdo, etc., com a menor velocidade possível. No fim de 10" a criança permanece com os olhos fechados por 10" igualmente.
11 anos	Apanhar com uma mão uma bola de 6 cm de diâmetro lançada de 3m. A criança deve deixar o braço ao longo do corpo até o momento em que seja dada a instrução "pegue". Após 30" de repouso, o mesmo exercício com a outra mão.

Equilíbrio Dinâmico

IDADE	DESCRIÇÃO
8 anos	Salto sem impulso acima do elástico colocado a 40 cm do chão (joelhos flexionados)
9 anos	Joelhos flexionados em ângulos reto, braços ao longo do corpo. A 25 cm do pé que repousa no chão coloca-se uma caixa de fósforos vazia. A criança deve empurrá-la, pulando num pé só em direção em direção a um objetivo situado a 5m.
10 anos	Saltar com impulso de um metro sobre uma cadeira de 45 a 50 cm de altura, cujo dorso é mantido pelo experimentador.
11 anos	Saltar no ar jogando as pernas para trás a fim de tocar os calcanhares com as mãos

Equilíbrio Estático

IDADE	DESCRIÇÃO
8 anos	Com os olhos abertos, mãos atrás das costas, erguer-se na ponta dos pés e flexionar o tronco em ângulo reto (pernas esticadas)
9 anos	Em pé sobre a perna esquerda, a planta do pé direito sobre a face interna do joelho esquerdo, braços sobre as coxas, olhos abertos.
10 anos	Manter-se na ponta dos pés, braços ao longo do corpo, pernas juntas, pés juntos.
11 anos	Os olhos fechados, manter-se sobre a perna direita, a perna esquerda flexionada, o joelho em ângulo reto, coxa paralela à direita em abdução ligeira, braços ao longo do corpo. Após 30" de repouso, mesmo exercício com outra perna

Coordenação Geral

IDADE	DESCRIÇÃO
8 anos	Erguer os braços para a frente, na horizontal. E manter. Largar de lado sem segurá-los.
9 anos	Largar os braços ao bater uma régua;
10 anos	Ergue um joelho quando solta os braços
11 anos	Erguer um braço e relaxar o outro.

Organização Espacial

IDADE	DESCRIÇÃO
8 anos	Direita-Esquerda reconhecimento no outro. Toca minha mão esquerda. Pega uma bola e pergunta em que mão está segurando.
9 anos	Mão esquerda no olho direito.
10 anos	Reprodução dos movimentos de 9 anos, utilizando figuras.
11 anos	Determinar a posição de três bolas com cores diferentes. EX. A bola azul está à direita ou à esquerda da vermelha.

Organização Espaço-Temporal

- ▶ Provas das batidas.
- ▶ Reprodução e transcrição
- ▶ 00 000

IDADE	Pontos
8 anos	19
9 anos	24
10 anos	27
11 anos	32

Dominância Lateral das Mãos

- ▶ Lançar uma bola
- ▶ Dar corda no despertador.
- ▶ Pregar um prego
- ▶ Escovar os dentes
- ▶ Pentear os cabelos
- ▶ Virar a maçaneta da porta
- ▶ Assoar o nariz
- ▶ Utilizar a tesoura
- ▶ Cortar com uma faca
- ▶ Escrever.

Dominância Lateral dos Olhos

- ▶ Sighting
- ▶ Telescópio
- ▶ Caleidoscópio

Dominância Lateral dos Pés

- ▶ Despender a bola
- ▶ Conduzir a bola
- ▶ Chutar a bola

Prova de Rapidez – Mira Stamback

APÊNDICE

APÊNDICE 1 – ARTIGO ORIGINAL**Analysis of PRE and post-operative serum biomarkers of hypoxia in patients with congenital heart disease**

Quadros, F.S.¹; Marinowic, D. R.²; Ricachinevsky, C.³; Botta, A.M.⁴; Nunes, M.L.⁵

¹Neuropediatrist and Preceptor of the Residency in Neuropediatrics of the Santo Antônio Children's Hospital, Santa Casa de Misericórdia Hospital Complex, Porto Alegre, Brazil. Mailing Address: Avenida Independência, 155, Departamento de Neuropediatria, Andar M1, Bairro Independência, CEP 90035-074, Porto Alegre/RS, Brasil. Phone 5551-32148649. Email: fernandaqua@gmail.com.

²Biologist, Master's and Doctorate in Health Sciences, Adjunct Professor of the School of Medicine of Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Researcher in the areas of Cellular and Molecular Biology, Cell Culture and Cell Reprogramming. in Biomedical Research Institute. Mailing Address: Avenida Ipiranga, 6690 – 2º andar, Bairro Jardim Botânico, CEP 90610-000, Porto Alegre/RS, Brasil. Phone: 5551-33203353. Email: dmarinowic@gmail.com.

³Pediatric Intensivist, Preceptor of Residence in Pediatric Intensive Care and Head of the Intensive Care Unit of the Santo Antônio Children's Hospital, Santa Casa de Misericórdia Hospital Complex, Porto Alegre, Brazil. Mailing Address: Avenida Independência, 155 – 4º andar, Bairro Independência, CEP90035-074, Porto Alegre/RS, Brasil. Phone: 5551-32148754. Email: ricachinevsky@terra.com.br.

⁴Pediatric Cardiologist, Preceptor of Residence in Pediatric Cardiology and Pediatric Intensive Care Unit of the Santo Antônio Children's Hospital, Santa Casa de Misericórdia Hospital Complex, Porto Alegre, Brazil. Mailing Address: Avenida Independência, 155 – 4º andar, Bairro Independência, CEP90035-074, Porto Alegre/RS, Brasil. Phone: 5551-32148754. Email: abotta2512@gmail.com.

⁵Neuropediatrist, Professor of the School of Medicine of Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Director of the Brain Institute of Rio Grande do Sul, Professor of the Post-Graduate Program in Medicine and Child Health at the Medical school of Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Mailing Address: Avenida Ipiranga, 6690, prédio 63, Bairro Jardim Botânico, CEP 90610-000, Porto Alegre/RS, Brasil. Phone: 5551-33205900. Email: mlnunes@pucrs.br.

ABSTRACT

Introduction: in patients with congenital heart disease, only preoperative and postoperative analysis of the patient through neurological examination has shown a low predictive value for neuropsychomotor outcome, suggesting the need to incorporate other neurological status assessment methods.

Objectives: To determine the dosage of the biomarkers (interleukin-10, brain-derived neurotrophic factor or BDNF, endothelial growth factor receptor 1 or VEGFR-1 and tumor necrosis factor alpha or TNF-alpha) in peripheral blood of patients with congenital heart disease in the pre and postoperative periods.

Methods: cross-sectional study. Patients were selected at Santo Antônio Children's Hospital, Porto Alegre, Brazil. The sample consisted of 22 patients with ages ranging from 1 day to 17 years and 11 months of age, with congenital heart disease who underwent cardiac surgery.

Results: Postoperative IL-10 and VEGFR1 showed higher values than preoperative measurements, but this variation did not show statistical significance ($p = 0.34$ and $p=0.09$, respectively). Variations in pre and postoperative BDNF and TNF-alpha dosages were statistically significant. Comparing the biomarkers with two cardiopulmonary bypass time slices, more or less than 95 minutes, no statistically significant variations were found. Comparing the clinical data regarding neurological complications, it was found that the longer the total time of hospitalization and surgery, the greater the probability that the patient presented postoperative neurological complications. In addition, if there was a previous history of seizures, the probability of having seizures in the postoperative period was higher. Comparing the clinical data regarding sepsis in the postoperative period, it was shown that the higher the IL-10 in the postoperative period, the greater the probability of occurrence of sepsis.

Conclusion: There is an intimate relationship between the immune and neurological systems, which explains the pathogenesis of the inflammatory process that is triggered by brain lesions

Key words: congenital heart disease, cardiopulmonar bypass, biomarkers, BDNF, IL-10, TNF-alpha, VEGFR-1

INTRODUCTION

The cardiovascular and neurological systems are closely connected during development, health, and disease. Newborns with congenital heart disease represent 2 to 5% of the pediatric population and require surgical, early and specialized treatment in tertiary centers of high complexity¹. The risk of death and cardiovascular complications in these difficult surgeries are considerable. In addition, numerous studies have shown that these individuals are at risk for delayed neuropsychomotor development, which is related to the combination of immaturity and acquired brain lesions². Before surgery, chronic hypoxia, acidosis, malnutrition, inadequate cerebral perfusion resulting from hemodynamic instability, chromosomal abnormalities, and cerebral dysgenesis are the main factors of poor prognosis.³ During the procedure, hypoxic-ischemic damage may result from cerebral perfusion and metabolism inadequate, temperature changes and cardiogenic embolism, whereas after cardiorespiratory arrest, infection, arrhythmias and other factors add risk of brain injury⁴. The high morbimortality rates of these complex diseases suggest that more attention be paid to neurological monitoring and neuroprotection pre, intra and postoperative⁵. A consistent predictive marker of mortality after cardiac surgery has not yet been identified; however, lactate has been used as a marker of cellular hypoxia and insufficient cellular perfusion, and hyperlactatemia has been associated with mortality and major postoperative complications⁶. On the other hand, only the preoperative and postoperative analysis of the patient through traditional physical examination and neurological evolution have shown a low predictive value for neuropsychomotor outcome, suggesting the need to incorporate other methods of evaluation of the neurological state⁷. In this way, it is essential to carry out more scientific studies that allow the understanding of modifiable preoperative risk factors, the influence of surgical time and the importance of pre, intra- and postoperative central nervous system monitoring for neurological outcome⁸. BDNF or neurotrophic factor derived from the brain is a neurotrophin widely distributed in the central nervous system (CNS) and is secreted by CNS neurons and astrocytes to promote neuronal growth, differentiation, regeneration and repair, as well as being a marker of nutrition factors and brain damage⁹. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is an angiogenesis inducing peptide with recently identified neurotrophic effects¹⁰. The major

neuroprotective mechanisms of VEGF include: (1) modulation of phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) with nuclear factor B signaling, via, inhibition of caspase-3 activity and reduction of ischemic neuronal apoptosis; (2) inhibition of slow potassium channel currents, (3) increased proliferation and migration of neural progenitors in the subventricular zone, and improvement of neurogenesis and striatal maturation of newborn neurons in brains of adult rats after stroke¹¹. Concentrations of VEGFR1 in plasma are directly related to the severity of hypoxic-ischemic encephalopathy and cyanosis in congenital heart diseases¹².

Interleukins are a group of numerous cytokines that function as inflammatory mediators. IL-10 plays a protective role in brain tissue by inhibiting the secretion of IL-1 β , IL-8 and TNF- α , inhibiting the production of leukocyte aggregation and chemokines, and reducing inflammatory responses in the brain. TNF- α promotes synthesis and release of IL-1 β and IL-8, the induction of apoptosis of nerve cells, rupture of the blood-brain barrier and aggravates brain damage. Other studies indicate that TNF- α is an inflammatory factor involved in the early onset of hypoxic-ischemic (EHI), with peak up to 24 h after birth and TNF- α concentration was related to the severity of EHI and the prognosis of the patients.

MATERIALS AND METHODS

Cross-sectional observational, descriptive study. The patients were selected at the Inpatient Unit and at the Pediatric Intensive Care Unit of the Santo Antônio Children's Hospital, Santa Casa de Misericórdia Hospital Complex, Porto Alegre, Brazil from December 2018 to April 2019. The sample consisted of 22 patients aged 1 day to 17 years and 11 months of age, with congenital heart disease undergoing cardiac surgery. The selected patients will be submitted to anamnesis, traditional neurological examination and evolutionary neurological examination in a preoperative evaluation.

Two blood samples, 3mL each, were collected before and after the surgery, totaling 6mL of blood. The first sample of peripheral blood will be collected in the 24 hours prior to the surgical procedure and the second sample will be collected in the immediate postoperative period (up to 24 hours after the end of the surgery). Sequentially, the samples will be stored appropriately and taken by the researcher

himself to the Biochemical Research Institute for analysis. Samples are analyzed by a multiplex and assay kit using the Luminex technique. In addition, periodic neurological evaluations will be performed throughout the hospital stay of the patient, as well as complementary examinations and therapies that may be necessary.

The normality of the data was evaluated by the Shapiro-Wilk test. Quantitative data (asymmetric distribution) were expressed in median and interquartile range. Qualitative measures were presented in absolute and relative frequency. The comparison of the quantitative data (age, SPO₂, time of some outcome and biomarkers) between two groups / categories (neurological complications, sepsis, seizures, neurological examination, CPB time, biomarkers before / after surgery) (related samples) or by the Man-Whitney U test (independent samples). For comparative purposes, CPB time data were also stratified according to the median of the results obtained in the study (95 minutes). On the other hand, the qualitative variables (neurological complications, sepsis, seizures, neurological examination, prior DNPM, convulsions, comorbidities, CPB) were analyzed by Fisher's exact test and / or Pearson's Chi-square test. Finally, the correlation of the quantitative data was performed by the Spearman correlation test. All analyzes and data processing were performed in the SPSS 18.0 program. The significance level adopted was 5% ($p < 0.05$).

RESULTS

Table 1 and table 2 shows the main characteristics of the study population. Two individuals had a genetic diagnosis of Down Syndrome. Regarding the surgical corrections, in one subject of the study, a cavopulmonary anastomosis or Fontan procedure was scheduled. However, due to technical and anatomical difficulties in the transoperative period, he ended up performing ligation of the azygos vein only and being listed for transplantation. Postoperative IL-10 and VEGFR1 levels showed higher values than preoperative measurements, but this variation did not show statistical significance ($p = 0.34$ and $p = 0.09$, respectively). Variations in pre and postoperative BDNF and TNF- α dosages were statistically significant, with $p = 0.05$ and $p = 0.03$, respectively. Relating the biomarkers to two CPB time cuts, more than 95 min; or less

than 95 min, no statistically significant variations were found, but the TNF-alpha dosages in the postoperative period of those patients with longer CPB had a more expressive decrease, obtaining a value of $p=0.06$, which may not have presented statistical significance, due to the small sample size. Comparing the clinical data regarding neurological complications, it was found that the greater the total time of hospitalization and surgery, the greater the probability of the patient presenting neurological complications in the postoperative period, with values of $p=0.012$ and 0.025 respectively. In addition, if there was a previous history of seizures, the probability of having seizures in the postoperative period was higher, with a value of $p=0.05$. Of the 4 patients who had seizures in the postoperative period, 3 (75%) had previous history of seizures and also had postoperative sepsis. All had peripheral oxygen saturation between 80 and 97%, not being among the patients with lower saturation. One half had complex heart disease and the other half had Tetralogy of Fallot. One of the patients with postoperative seizures was diagnosed with Down Syndrome. The only patient with postoperative seizures without previous history had a complex heart disease and, due to the anatomical difficulty of the surgical correction, was not submitted to the planned procedure and, consequently, to extracorporeal circulation. Effectively, pulmonary trunk banding was performed without CPB, a strategy that lasted 186 minutes, but ended up undergoing numerous clinical complications, totaling 71 days of ICU stay and 98 days of total hospital admission. Comparing the clinical data regarding sepsis in the postoperative period, it was shown that the higher the IL-10 in the postoperative period, the greater the probability of occurrence of sepsis, with $p=0.029$. Regarding the traditional physical neurological examination, it was pointed out that if modified, the probability of the individual presenting neuropsychomotor development delay was also higher, with $p=0.001$.

DISCUSSION

In the present study, we used hypoxia biomarkers in a sample of children and adolescents with congenital heart disease and undergoing cardiac surgery. We observed a significant fall in postoperative BDNF and TNF-alpha levels and an increase in IL-10 in patients who developed sepsis as a complication of the surgical

procedure. We did not observe a correlation between the preoperative and prognostic markers of the patients. All patients underwent evaluation of traditional neurological examination and evolutionary neurological examination in the preoperative period. It was possible to observe that the majority already had abnormalities in both evaluations, even though never undergoing any type of surgical procedure. It was observed that the more cyanotic the heart disease, the more neuropsychomotor development delay the patient had. In fact, much is discussed in the scientific literature about the impact of congenital heart disease on brain architecture and neuropsychomotor development. The cardiovascular and neurological systems are closely connected during development.

Currently, it is known that there is a continuous risk of mortality and morbidity, particularly motor and cognitive disabilities, which represent the most common long-term complications and those with the greatest negative impact on quality of life, academic performance and life chances independent adult¹³. Still in the womb, the fetus is already suffering from brain injury, due to the systemic repercussion of the malformations¹⁴.

No statistically significant relationships were found between the levels of preoperative biomarkers and the variables studied. However, prior to surgery, chronic hypoxia, acidosis, malnutrition, inadequate cerebral perfusion resulting from hemodynamic instability, chromosomal abnormalities, and brain dysgenesis are the main factors of poor prognosis¹⁵. During the procedure, hypoxic-ischemic damage may result from inadequate perfusion and cerebral metabolism, temperature changes, and cardiogenic embolism. In the postoperative, are cardiorespiratory arrest, infection, arrhythmias and other factors add risk of brain injury. Regarding the CPB time, it was found that the higher, the higher the peak TNF-alpha in the postoperative period, although a statistically significant relation was not obtained. In addition, the longer the total time of surgery and hospitalization, independently of the concentration of biomarkers, the worse the clinical and neurological outcomes. Extracorporeal circulation triggers an inflammatory response that causes blood pressure to drop, heart rate and body temperature rise, leukocytosis and tissue edema. These phenomena are accompanied by the activation of the cytokine system, including interleukin-6 (IL-6), IL-10, IL-2 receptor (IL-2r), tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and increased adhesion molecules, which are important biomarkers in various diseases¹⁶. Cardiac

surgery itself triggers a complex systemic inflammatory process. The inflammatory cascade contributes to postoperative complications such as respiratory failure, renal, hepatic dysfunction, neuropsychological dysfunction and, in some cases, multiple organ failure.

In the literature, in patients with cyanotic congenital heart disease, increased serum levels of endothelial growth factor are proportional to the degree of cyanosis¹⁷.

However, the same relationships between VEGFR-1 concentration and the degree of cyanosis were not found in the study. On the other hand, remarkable amounts of neovascularization develop in patients with congenital cyanotic heart disease, which has low pulmonary blood flow and systemic cyanosis. Neovascularization in these patients plays a compensatory role in systemic hypoxia and may be important for organ survival. A general deregulation of angiogenesis with predominance of an antiangiogenic environment in the brain tissue of fetuses with congenital heart disease has been observed, suggesting that these fetuses may have an intrinsic angiogenic impairment that could contribute to impaired brain perfusion and abnormal neurodevelopment later in life. The summation of malformations in the astrocytic architecture and impairment of cerebral microcirculation are the main factors of low cerebral oxygenation in patients with congenital heart disease¹⁸.

BDNF plays a protective role in hypoxic-ischemic lesions and, as in other studies, it has been found that its levels fall significantly postoperatively, making the patient more vulnerable to brain damage.

The same mechanisms that reduce BDNF concentrations in cardiac patients should also contribute to the higher risk of ischemic stroke in these patients.

An expressive increase in IL-10 has been demonstrated postoperatively and a statistically significant relationship between the concentration of this biomarker and the occurrence of sepsis has been seen in several other studies. This finding is directly related to SIRS induction. Elevation of inflammatory biomarkers after cardiac surgery are factors that promote SIRS. This increase is mainly related to the interaction of the blood components with the artificial surfaces of the CPB machines, as well as surgical trauma and reperfusion. The inflammatory reaction that is triggered is not specific for infection or non-infection and may be the start for a sepsis process that has high mortality and also worsens the neurological prognosis. Therefore, the higher the

perioperative inflammatory response, the worse the patient's overall prognosis. In addition, there is no difference between the oxidative stress state in patients with cyanotic and acyanotic congenital heart disease and the healthy population, and this stress does not change after cardiac surgery¹⁹. A shorter time to reperfusion and cooling in CPB could reduce the overall inflammatory response. The increase in C-reactive protein levels may be due to the stress itself²⁰. The duration of CPB is a risk factor for SIRS. CPB has two distinct inflammatory response phases. The early phase is triggered by blood contact with the machine that activates the humoral and cellular response, releasing cytokines. The late phase is triggered by reperfusion and endotoxemia, leading to endothelial damage and microcirculation alteration. The inflammatory cascade resulting from this SIRS process affects multiple organs and is the main determinant of the morbidity and mortality of patients with congenital heart disease²¹. Pre- and postoperative imaging examinations of these patients were not obtained, which would have refined the evaluation of possible pre and postoperative neurological lesions. However, it is a population that presents an important anesthetic risk and many of the surgical procedures happen as a matter of urgency, limiting the execution of these exams. The procedures of preoperative neurological evaluation with the aid of complementary tests, intraoperative Doppler neurological monitoring, monitoring with continuous electroencephalogram in the immediate postoperative period, postoperative neurological reevaluation with new imaging tests and early rehabilitation would be part of an ideal protocol for the neurological management of cardiac patients. Finally, BDNF would be involved in a kind of interface between the immune and neurological systems²². In particular, growing evidence indicates that some of the most potent members of the neurotrophin family, for example nerve growth factor (NGF) and brain derived neurotrophic factor (BDNF), act or are produced by immune cells. They allow the two systems to communicate and eventually provide a molecular explanation for inflammation following CNS injury. In principle, inflammatory reactions may be neuroprotective as well as neurotoxic. The concept of neuroprotective immunity has profound implications for the pathogenesis and treatment of neurological diseases in which the immune system is involved, especially inflammatory diseases such as multiple sclerosis (MS), but also certain neurodegenerative disorders. BDNF, thought to be primarily expressed in the nervous system, can essentially be produced by all major cell types of the human peripheral

immune system, including CD4 and CD8 T lymphocytes, B lymphocytes and monocytes in vitro. In addition, the production of BDNF has been demonstrated in the infiltration of immune cells in situ in experimental models of CNS injury and inflammation of the airways. Then, perhaps the fall of interleukins and immunity also correlates directly with the fall of BDNF and greater ease of presenting ischemic lesions. Biomarkers have been demonstrating that there are connections between the immune system and the physiology of all other systems, as well as the CNS. Many autoimmune cells can express neurotrophins. To understand the significance of these biomarkers in ischemic and / or inflammatory brain lesions, it is essential to understand the balance of physiological balance between neuroprotection and neurodegeneration factors. Interleukins, among them IL- 10, and TNF-alpha, would be in the pro-inflammatory or destruction group, whereas BDNF and VGEFR-1 would be part of the anti-inflammatory or neuroprotective group. CPB puts a greater weight on the side of the pro-inflammatory factors, causing this scale to deviate to neuro-destruction. In order to minimize the neurological damage of highly complex cardiac surgical procedures, it is imperative that studies identify an efficient way to reduce or extinguish CPB time or ways of stimulating the expression of neuroprotectors, causing the scale to swing to the side of the neuroprotection.

CONCLUSIONS

It was observed that postoperative neurological outcome seems to be multifactorial and depends on the interaction of preoperative, intraoperative and postoperative factors. Preoperative levels of IL-10, VGEFR-1, BDNF and TNF-alpha are not directly related to any of the variables investigated. There is a decrease in the levels of TNF alpha and BDNF in the postoperative period, which demonstrates the 82 greater immunological and neurological vulnerability of the patients in this period, evidencing that the inflammatory cascade triggered by the surgical procedure is involved in the sepsis and neurological complications. In fact, it is explicit that many patients already presented alterations in neurological examination and neuropsychomotor development even before any procedure, especially those with lower peripheral oxygen saturations, making it clear that the congenital heart disease

itself should imply relevant brain alterations. In addition, the increase in IL-10 levels in the postoperative period is specifically related to a higher occurrence of sepsis. In addition, it can be inferred that the longer the time of extracorporeal circulation and surgery, the worse the clinical outcome of the patients. Finally, the importance of subjecting the patient with congenital heart disease to periodic neurological evaluations is emphasized, even if there is no well-defined surgical planning and, at an early stage, when necessary, refer it to multiprofessional rehabilitation.

REFERENCES

1. Duarte, L. C. *Incidência de malformações congênitas em recém-nascidos em hospital geral, Dourados-MS no período de 2003 a 2007*. 2009. Diss. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)-Universidade de Brasília. 75p, 2009.
 2. Harbison, Anna Lonyai, et al. "Clinical Factors Associated with Cerebral Metabolism in Term Neonates with Congenital Heart Disease." *The Journal of pediatrics* 183 (2017): 67-73.
 3. Limperopoulos, Catherine, et al. "Neurodevelopmental status of newborns and infants with congenital heart defects before and after open heart surgery." *The Journal of pediatrics* 137.5 (2000): 638-645.
 4. Majnemer, Annette, et al. "A new look at outcomes of infants with congenital heart disease." *Pediatric neurology* 40.3 (2009): 197-204.
 5. Hamrick, Shannon EG, et al. "Neurodevelopmental outcome of infants supported with extracorporeal membrane oxygenation after cardiac surgery." *Pediatrics* 111.6 (2003): e671-e675.
 6. Kalyanaraman, Meena, et al. "Serial blood lactate levels as a predictor of mortality in children after cardiopulmonary bypass surgery." *Pediatric Critical Care Medicine* 9.3 (2008): 285-288.
 7. Bellinger, David C., et al. "Developmental and neurological status of children at 4 years of age after heart surgery with hypothermic circulatory arrest or low-flow cardiopulmonary bypass." *Circulation* 100.5 (1999): 526-532.
 8. Wernovsky, Gil. "Current insights regarding neurological and developmental abnormalities in children and young adults with complex congenital cardiac disease." *Cardiology in the Young* 16.S1 (2006): 92-104.
 9. Lv, H., Wang, Q., Wu, S., Yang, L., Ren, P., Yang, Y., ... & Li, L. (2015). Neonatal hypoxic ischemic encephalopathy-related biomarkers in serum and cerebrospinal fluid. *Clinica Chimica Acta*, 450, 282-297.
 10. Jin, K. L., Mao, X. O., & Greenberg, D. A. (2000). Vascular endothelial growth
-

factor: direct neuroprotective effect in in vitro ischemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(18), 10242-10247.

11. Sun, F. Y., & Guo, X. (2005). Molecular and cellular mechanisms of neuroprotection by vascular endothelial growth factor. *Journal of neuroscience research*, 79(1-2), 180-184.
 12. Xuan, S. H. I. (2006): Dynamic Changes of Serum Levels of Vascular Endothelial Growth Factor in Newborn Infants with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy and Their Clinical Significance [J]. *Journal of Applied Clinical Pediatrics*, 12.
 13. Rajagopalan, Vidya, et al. "Fetuses with single ventricle congenital heart disease manifest impairment of regional brain growth." *Prenatal diagnosis* 38.13 (2018): 1042-1048.
 14. Haponiuk, Ireneusz, et al. "Postoperative kinetics of common inflammatory biomarkers after congenital heart defect procedures with extracorporeal circulation in children." *Kardiologia Polska (Polish Heart Journal)* 76.6 (2018): 968-973.
 15. Claessens, Nathalie HP, et al. "Neuroimaging, cardiovascular physiology, and functional outcomes in infants with congenital heart disease." *Developmental Medicine & Child Neurology* 59.9 (2017): 894-902.
 16. Griffiths, Paul D., et al. "An integrated in utero MR method for assessing structural brain abnormalities and measuring intracranial volumes in fetuses with congenital heart disease: results of a prospective case-control feasibility study." *Neuroradiology* (2019): 1-9.
 17. Ortinau, Cynthia M., et al. "Prenatal to postnatal trajectory of brain growth in complex congenital heart disease." *NeuroImage: Clinical* 20 (2018): 913-922.
 18. Gertsvolf, Nina, et al. "Association between Subcortical Morphology and Cerebral White Matter Energy Metabolism in Neonates with Congenital Heart Disease." *Scientific reports* 8 (2018).
 19. Zou, Rongjun, et al. "Neurocardiology: cardiovascular changes and specific brain region infarcts." *BioMed research international* 2017 (2017).
 20. Kerschensteiner, Martin, et al. "Neurotrophic cross-talk between the nervous and immune systems: implications for neurological diseases." *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society* 53.3 (2003): 292-304.
 21. Hohlfeld, Reinhard. "Neurotrophic cross-talk between the nervous and immune systems: relevance for repair strategies in multiple sclerosis?." *Journal of the neurological sciences* 265.1-2 (2008): 93-96.
 22. Beck, Thomas, et al. "Brain-derived neurotrophic factor protects against ischemic cell damage in rat hippocampus." *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 14.4 (1994): 689-692.
-

TABLE

Table 1. Clinical characteristics of the sample

Variables Evaluated	N=19
Age, years	1,00 (0,58 – 5,83)
Age, n (%)	
< 1 year	08 (42,1)
1 to 5 years	07 (36,8)
6 to 12 years	04 (21,1)
Gender, female n (%)	11 (57,9)
Types of cardiopathies, n (%)	
Complex	11 (57,9)
IVC	03 (15,8)
FT	04 (21,1)
Mitral Stenosis	01 (5,3)
NPD, n (%)	
Adequate	08 (42,1)
Delayed	11 (57,9)
Neurological Examination, n (%)	
Normal	09 (47,4)
Abnormal	10 (52,6)
Previous Seizures, n (%)	
Yes	03 (15,8)
No	16 (84,2)
Comorbidities, n (%)	
Epilepsy	02 (10,5)
Down's Syndrome	02 (10,5)
None	15 (78,9)
Types of Surgeries, n (%)	
Enlargement of the right ventricular outflow tract	06 (31,6)
IVC correction	04 (21,1)
Fontan	02 (10,5)
Tetralogy of Fallot	
Correction	02 (10,5)
Implant of Valvular Prosthesis	02 (10,5)
Rastelli	01 (5,3)
Pulmonary Artery Banding	01 (5,3)
Azygos Vein Ligation	01 (5,3)

Quantitative data presented in median and interquartile range. Qualitative variables expressed in absolute (n) and relative frequency (%). IVC: Interventricular Communication. FT: Tetralogy of Fallot NPD: neuropsychomotor development.

Table 2 - Clinical characteristics of the sample

Variables evaluated	N=19
Previous SPO ₂ , percentual	92,00 (80,00 – 96,00)
Previous SPO ₂ , n (%)	
60 to 70	01 (5,3)
71 to 80	04 (21,1)
81 to 90	04 (21,1)
91 to 100	10 (52,6)
Length of stay in ICU, days	9,00 (4,00 – 25,00)
Total hospitalization time, days	30,00 (8,00 – 32,00)
Total surgery time, minutes	259,00 (215,00 – 319,00)
Total CPB time, minutes	105,00 (57,00 – 118,00)
Sepsis, n (%)	
Yes	08 (42,1)
No	10 (52,6)
Death during surgery	01 (5,3)
Neurological complications, n (%)	
Seizures	04 (21,1)
None	14 (73,7)
Death during surgery	01 (5,3)
Previous inflammatory markers	
IL-10, pg/mL	3,34 (1,63 – 14,06)
BDNF, pg/mL	26509,82 (21089,14 – 59389,08)
TNF- α , pg/mL	17,67 (8,42 – 22,91)
VEGFR-1, pg/mL	5926,89 (1890,07 – 7998,58)

Quantitative data presented in median and interquartile range. Qualitative variables expressed in absolute (n) and relative frequency (%). SPO₂: Peripheral saturation of oxygen. CPB: cardiopulmonary bypass. IL-10, BDNF, TNF- α , VEGFR-1: pg / ml concentration.

FIGURE

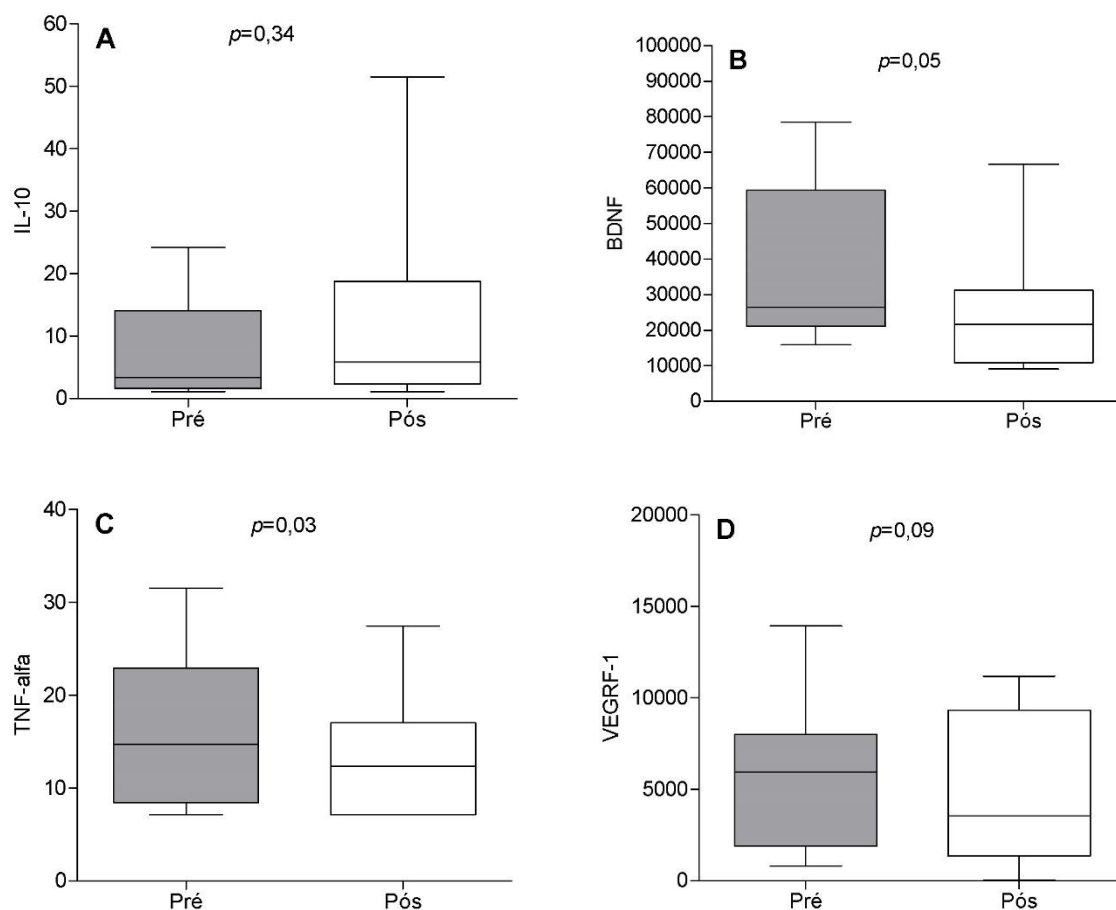


Figure 1. Comparison of the concentrations of pre and post-surgery biomarkers of hypoxia. (A) (pre-operative: 3,34 (1,63 – 14,06) vs. Post-operative: 5,84 (2,37 – 18,73); $p=0,34$), (B) BDNF (pre-operative: 26509,82 (21089,14 – 59389,08) vs. Post-operative: 21654,37 (10846,57 – 31287,41); $p=0,05$), (C) TNF-alfa (pre-operative: 17,67 (8,42 – 22,91) vs. Post-operative: 12,20 (7,12 – 16,43); $p=0,03$) e VEGFR-1 (D) (pre-operative: 5926,89 (1890,07 – 7998,58) vs. Post-operative: 2106,11 (687,44 – 4485,63); $p=0,09$).

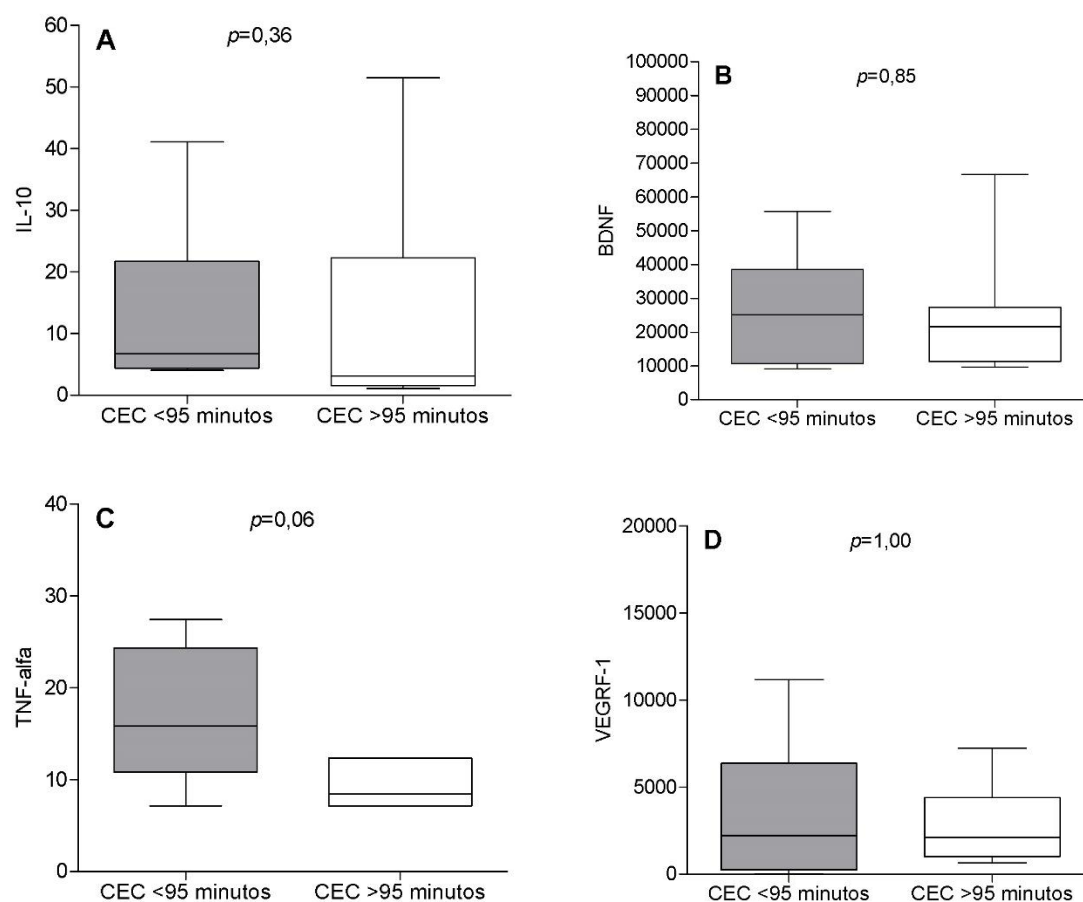


Figure 2. Comparison of the serum biomarkers of hypoxia with different times of CPB (A) (CPB <95 minutos: 6,72 (4,39 – 21,69) vs. CPB>95 minutos: 3,11 (1,59 – 22,23); $p=0,36$), (B) BDNF Post-operatives (CPB <95 minutos: 25132,22 (10675,57 – 38522,20) vs. CPB>95 minutos: 21654,37 (11357,22 – 27314,81); $p=0,85$), (C) TNF-alfa Post-operatives (CPB <95 minutos: 15,84 (10,83 – 24,32) vs. CPB>95 minutos: 8,42 (7,12 – 12,33); $p=0,06$) e do VEGFR-1 Post-operatives e (D) (CPB <95 minutos: 2206,72 (247,51 – 6380,16) vs. CPB>95 minutos: 2106,11 (1006,44 – 4403,44); $p=1,00$).