



INSTITUTO DE MEDICINA INTEGRAL PROF.

FERNANDO FIGUEIRA - IMIP

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*

DOUTORADO EM SAÚDE MATERNO INFANTIL

**PERFIL CLÍNICO-LABORATORIAL E DAS
CITOCINAS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM
PNEUMONIA AGUDA**

RITA DE CÁSSIA COELHO MORAES DE BRITO

Recife, 28 de agosto de 2014



**INSTITUTO DE MEDICINA INTEGRAL PROF.
FERNANDO FIGUEIRA - IMIP**

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*

DOUTORADO EM SAÚDE MATERNO INFANTIL

**PERFIL CLÍNICO-LABORATORIAL E DAS
CITOCINAS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM
PNEUMONIA AGUDA**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Saúde Materno Infantil do
Instituto de Medicina Integral Prof.
Fernando Figueira para obtenção do
grau de doutor em Saúde Materno
Infantil.**

ALUNA: RITA DE CÁSSIA COELHO MORAES DE BRITO

ORIENTADORES: PROF. DR. JAILSON DE BARROS CORREIA

PROF^a. DRA. GISÉLIA ALVES PONTES DA SILVA

Linha de pesquisa: Doenças Infecciosas Prevalentes na Infância

Recife, 2014

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha Catalográfica
Preparada pela Biblioteca Ana Bove
Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira – IMIP

B862p Brito, Rita de Cássia Coelho Moraes de

Perfil clínico-laboratorial e das citocinas em crianças e adolescentes com pneumonia aguda / Rita de Cássia Coelho Moraes de Brito; orientadores Jailson de Barros Correia, Gisélia Alves Pontes da Silva – Recife: Do Autor, 2014.

143 f.: il.

Tese (Doutorado) – Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira, 2014.

1. Pneumonia. 2. Empiema pleural. 3. Citocinas. 4. Inflamação. I. Correia, Jailson de Barros, orientador. II. Silva, Gisélia Alves Pontes da, orientadora. III. Título.

CDD 616.241

FOLHA DE APROVAÇÃO

PERFIL CLÍNICO-LABORATORIAL E DAS CITOCINAS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM PNEUMONIA AGUDA

Tese de Doutorado em Saúde Materno Infantil do Instituto de Medicina Integral Prof Fernando Figueira (IMIP) submetida à defesa pública e aprovada pela banca examinadora em Recife, 28 de agosto de 2014.

1º Membro externo

2º Membro externo

3º Membro interno

4º Membro interno

Orientador – Prof. Dr. Jailson de Barros Correia

Recife, Agosto de 2014

DEDICATÓRIA

*Este trabalho é dedicado a todas as mães que perderam seus filhos, e aqueles,
como Guilherme que se vão, vítimas de pneumonia.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, autor da Vida e da Esperança...

Aos meus pais, pela paciência, incentivo, confiança, doação e dedicação. Por terem acreditado e investido para que eu pudesse alçar voos, que chegaram mais alto do que nós tivéssemos sonhado. Lembro que ainda criança, vocês me fizeram crer, que eu poderia ser aquilo que eu quisesse, desde que acreditasse que seria capaz e mantivesse, a retidão de atitudes e a fé em Deus. Mesmo que hoje, você, minha mãe, não consiga entender o sentido de um simples agradecimento, o meu muito obrigada.

A meu orientador Jailson que acreditou na execução do projeto mesmo quando ele parecia improvável.

A minha orientadora, professora Gisélia, por ter aceitado o desafio de mais uma vez se aprofundar no mundo dos pulmões e da inflamação, o fazendo com capacidade técnica, simplicidade e maestria me guiando no fazer e desfazer, com paciência e sugestões, que sempre me serão úteis no campo da ciência e da vida. Muito obrigada...

Um agradecimento muito especial a você, amiga e agora orientadora da família, Norma Lucena, que se disponibilizou em ajudar a arrumar o que estava desarrumado tornando real este momento.

*“E aprendi que se depende sempre, de tanta, muita,
diferente gente, toda pessoa sempre é, as marcas das lições
diárias de outras tantas pessoas.*

*“E é tão bonito quando a gente entende que a gente
é tanta gente onde quer que a gente vá.*

*“E é tão bonito quando a gente sente que nunca
está sozinho, por mais que pense estar.”*

*Parafraseando Gonzaguinha, não poderia ser diferente para
agradecer a vocês do **Helena Moura**, especialmente Renata, Fátima, Lúcia*

Helena e Jaqueline,

*do ambulatório de Pediatria do IMIP: Verônica Batista, Márcia
Melo, Noélia, Nádia, Marly, Márcio, Fernanda, Fernando, Ana Cleide,*

Karla, Rosana, Raquel, Marília.... ,

*da enfermaria e emergência do Hospital da Restauração: Délia,
Daniele Rodrigues, Rosane, Cristina, Adriana e Ana Cláudia, e as
técnicas de enfermagem do HR, especialmente Jailda, Dalvanira,
Inácia, Sonia, Soninha, Jaci e Lene e ainda a Leuridan e Marina, no
laboratório pela paciência comigo com o manuseio com centrífugas, Kits,
plasma, e congelamentos.*

Sem vocês certamente não seria possível.

A minha incentivadora diária, amiga de tantos anos... Suely Arruda

A minha querida amiga e companheira de muitos anos, Márcia Jaqueline, que supriu minha ausência tantas vezes, sem permitir que os pacientes não fossem vistos e trabalhando muitas vezes por nós duas.

Aos pacientes, e seus pais que contribuíram com este estudo e aos que não contribuíram porque ouvir o choro do seu filho era maior que a ciência

Aos meus irmãos Mano, Cacá, Lela e Sil, e meus sobrinhos queridos, que sempre acreditam, incentivam e se alegram com a realização dos sonhos!

As minhas alunas Talitha, Luciana e Juliana que sacrificaram férias para trabalhar muito comigo.

As minhas filhas Cecília, Marina e Luíza, pela compreensão das constantes faltas de tempo, compreensão das horas intermináveis diante do computador e empenho para que os minutos fossem bem aproveitados, mesmo que as correções de tarefas ocorressem durante as madrugadas.

E a você Carlos, meu fiel amigo, companheiro cúmplice- meu amor, pelo incentivo contínuo, desde quando ocupávamos os bancos da Universidade. Apoio em todas as horas, ombro e colo quando necessário e a certeza de um longo caminho a ser trilhado juntos.

Muito obrigada!

EPÍGRAFE

“Sessenta anos atrás, eu sabia tudo. Hoje sei que nada sei. A educação é a descoberta progressiva da nossa ignorância”.

Will Durant

RESUMO DA TESE

Introdução: Mecanismos fisiopatológicos das lesões pulmonares na pneumonia aguda são complexos e envolvem diversas moléculas que podem ser influenciadas por fatores do hospedeiro e do agente etiológico, determinando vários fenótipos quanto as manifestações clínicas e gravidade de pneumonia.

Objetivos: Descrever o perfil clínico-laboratorial em crianças e adolescentes internados em um serviço de saúde terciário na cidade de Recife, nordeste do Brasil e também descrever o perfil de citocinas e sua associação com aspectos clínicos e alterações do hemograma, em crianças e adolescentes com diferentes gravidades de pneumonia atendidas em três centros de referência em pediatria na mesma cidade.

Métodos: Foram realizados dois estudos distintos, sendo o primeiro um estudo retrospectivo, tipo série de casos com análise de prontuários de pacientes hospitalizados em serviço de saúde terciário, na cidade do Recife, nordeste do Brasil. Para análise comparativa, a população foi dividida em dois grupos: grupo I- pneumonia com derrame pleural e grupo II pneumonia sem derrame pleural. O segundo estudo foi de caráter exploratório e prospectivo realizado com crianças e adolescentes hospitalizadas, em cujas amostras de sangue periférico foram dosadas citocinas pró e anti-inflamatórias, na admissão, terceiro e oitavo dia de internamento, para avaliação precoce de resposta terapêutica e controle de cura. Os pacientes foram separados em dois grupos: pneumonia e pneumonia grave\muito grave, e comparados quanto aos níveis de citocinas e perfil clínico-laboratorial.

Resultados: No primeiro estudo 80 prontuários foram analisados. Houve predomínio do sexo masculino (61,3%) e de menores de quatro anos (73,8%). Febre e tosse foram os sintomas que persistiram por mais tempo. A gravidade dos casos foi caracterizada pela necessidade de drenagem torácica em 68,8% das crianças

admitidas, o uso de oxigênio em 31,2%, sendo a taxa de letalidade de 7,5%, exclusivamente entre as crianças procedentes do interior, ocorrendo 50% dos óbitos antes do 4º dia de admissão hospitalar. Houve falha no registro de alguns sinais clínicos, necessários para classificação de gravidade preconizado pelas Diretrizes brasileiras em pneumonia adquirida na comunidade em pediatria – 2007.

No segundo estudo, as citocinas TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12p70, INF- γ , IL-17A, IL-10 e IL-5 foram detectadas na admissão. Nos quadros de pneumonia grave/muito grave, IL-6 esteve associada a vômitos ($P=0,019$), dispneia ($P=0,012$) e leucocitose ($P=0,045$), INF- γ , a tiragem subcostal ($P=0,053$), TNF ($P=0,025$) e IL-1 β ($P=0,040$) com monocitose. A IL-10 esteve associada a linfocitose ($P=0,025$) em pneumonia. Houve significância estatística de tiragem subcostal ($P<0,000$), dificuldade respiratória ($P=0,007$), saturação de O₂ ($P=0,011$), sibilância ($P=0,032$) e vômitos ($P=0,021$) quanto a gravidade. Na evolução da doença, pacientes com pneumonia tiveram normalização da temperatura no dia D3 ($P=0,002$), e na pneumonia grave\muito grave entre os dias D3 e D8 ($P=0,001$), frequência respiratória ($P=0,014$) e hipóxia no D8. Na análise temporal de citocinas houve significância estatística para os níveis de IL6 em ambos os grupos, sem diferença entre os grupos.

Conclusão: Há maior letalidade entre as crianças procedentes do interior sugerindo retardo no início do tratamento. Sinais clínicos são bons preditores de gravidade para diagnóstico de pneumonia, havendo uma associação entre esses e níveis séricos de citocinas. A detecção de IL-6 sérica está relacionada ao processo inflamatório, sendo a citocina mais importante na caracterização de gravidade da pneumonia, e a redução dos seus níveis séricos está associado a recuperação clínica.

ABSTRACT

Introduction: Physiopathological mechanisms of pulmonary lesions in acute pneumonia are complex and involve several molecules which may be influenced by host factors and the etiologic agent, determining several phenotypes as the clinical manifestations and severity of pneumonia.

Objectives: To describe the clinical-laboratorial profile in children and adolescents admitted to a tertiary-care hospital in the city of Recife, in the Northeast of Brazil, and also to describe the profile of cytokines and their association with clinical aspects and changes in the blood count in children and adolescents with different severities of pneumonia attended in three referencial centers in pediatrics in the same city.

Methods: Two different studies were performed, the first was a retrospective study, a series case type analyzing hospitalized patients' medical records in a tertiary-care hospital, in the city of Recife, in the Northeast of Brazil. For comparative analysis, the population was divided into two groups: group I- pneumonia with pleural effusion and group II pneumonia without pleural effusion. The second study was of an exploratory and prospective character performed on hospitalized children and adolescents, in which samples of peripheral blood were pro-cytokines assayed and anti-inflammatory at admission on the third and eighth day of hospitalization, for early assessment of therapeutic response and cure control. The patients were put into two groups: pneumonia and severe/very severe pneumonia and compared the cytokines levels and clinical-laboratorial profile.

Results: In the first study, 80 medical records were analyzed. There was a predominance of males (61.3 %) less than four years old (73.8%). Fever and coughing were the symptoms that persisted for the longest time. The severity of the

cases was characterized by the need of chest tube drainage in 68.8% of the children admitted, the use of oxygen 31,2%, and the mortality rate was 7,5%, exclusively among the children from the countryside, occurred 50% of deaths before the 4th day of hospital admission. There was failure in the registration of some clinical signs, necessary for severity rating recommended by the Brazilian Guidelines for community-acquired pneumonia in pediatrics - 2007.

In the second study, the cytokines TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12p70, INF- α , IL-17A, IL-10 and IL-5 were detected in the admission. In the tables of severe/very severe pneumonia, IL-6 was associated with vomiting ($P= 0.019$), dyspnea ($P= 0.012$) and leukocytosis ($P= 0.045$), INF- α , the subcostal retraction ($P= 0.053$), TNF ($P= 0.025$) and IL-1 β ($P= 0.040$) with monocytosis. The IL-10 was associated with lymphocytosis ($P= 0.025$) in pneumonia, There was a statistical significance of subcostal retraction ($P < 0.000$), breathing difficulty ($P= 0.007$), O₂ saturation ($P= 0.011$), wheezing ($P= 0.032$) and vomiting ($P= 0.021$) and severity. In the evolution of the disease, patients with pneumonia had normal temperature on day D3 ($P= 0.002$), and in severe/very severe pneumonia between days D3 and D8 ($P= 0.001$), respiratory frequency ($P= 0.014$) and hypoxia in D8. The cytokines temporal analysis had a statistical significance for IL-6 levels in both groups with no difference between the groups.

Conclusion: There is a higher mortality among the children from the countryside suggesting a delay at the beginning of the treatment. Clinical signs are good predictors of severity for the diagnosis of pneumonia, and there is an association between these and serum levels of cytokines. The detection of IL-6 serum level is related to the inflammatory process, making the cytokines more important in

the characterization of pneumonia severity and the reduction of its serum level is associated to clinical recovery.

Key Words: Pneumonia, pleural effusion, cytokines, inflammation.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SINAIS

AIDPI	Atenção Integral às Doenças Prevalentes da Infância
APACHE II	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation
APCs	Células apresentadoras de antígeno
BALT	Tecidos linfóides associados a brônquios
CD	Células dendríticas
CD4 +	Linfócitos TCD4
CD8 +	Linfócitos T CD8
DATASUS	Departamento de Informática dos SUS
GAPPD	Plano de Ação Global para Pneumonia e Diarreia
IL 1,2,4,6,8,10, 12	Interleucina 1, 2,4,6,8,10,12
IL-6R	Receptor da interleucina 6
INF	Interferon
IRA	Infecção respiratória aguda
IRFs	Fatores de resposta ao interferon
LBP – LPS	Proteínas ligadoras de LPS
LPS	Lipopolissacarídeos
MAP3K	Proteína ativada por mitógeno quinase
MAPKs	Proteino-quinases ativadas por mitógenos
MD-2	Proteína mieloide de diferenciação-2
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
MSSA	<i>Staphylococcus aureus</i> sensível à meticilina
NF-kB	Fator de transcrição
NK	Células Natural <i>Killer</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde

PAC	Pneumonia Adquirida na comunidade
PAMPs	Padrões Moleculares Associados à Patógenos
PCR	Proteína C-reativa
pg/mL	Picograma por mL
PN	Pneumonia necrozante
PNM	Pneumonia
PNM\DP	Pneumonia com Derrame Pleural
PNMG	Pneumonia grave\muito grave
PRR	Receptores de Reconhecimento de Padrões
rpm	Respirações por minuto
RPM	Rotações por minuto
SARA	Síndrome da angústia respiratória do adulto
SIRS	Síndrome da resposta inflamatória sistêmica
SpaO ₂	Saturação de oxigênio
TC	Tomografia computadorizada
TGF	Fator de crescimento transformante
Th (1, 2, 17)	Células <i>T helper</i> (1, 2, 17)
Th 0	Células T virgens
Treg	Células T reguladoras
TIR	Domínio contendo adaptador indutor de interferon
TIR	Receptor de Interleucina-1/Receptor <i>Toll-Like</i>
TSC	Tiragem Subcostal
TLR – 2, 4, 6	Receptores <i>Toll-like</i> – 2, 4, 6
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TRAF6	Fator 6 associado ao receptor de TNF

SUMÁRIO

	Página
I-INTRODUÇÃO	01
II-REFERENCIAL TEÓRICO	05
2.1 Pneumonia: a interface entre a clínica e a fisiopatologia	06
2.2 A resposta inflamatória inicial da Pneumonia	09
2.3 Papel das citocinas na Pneumonia	10
2.4 Diagnóstico de Pneumonia Adquirida na Comunidade	17
2.5 Pneumonia Adquirida na Comunidade e suas complicações	22
III- OBJETIVOS	28
IV-MÉTODOS	30
4.1 -PRIMEIRO ESTUDO: Série de Casos	32
4.1.1- Desenho do estudo	32
4.1.2-Operacionalização na coleta de dados	32
4.1.3 Variáveis do estudo	34
4.1.4 Análise de dados	36

4.2 SEGUNDO ESTUDO:	37
4.2.1 Desenho do estudo	37
4.2.2 População, local e período de estudo	38
4.2.3 Operacionalização do estudo	39
4.2.4 Variáveis do estudo	41
4.2.5 Análise das citocinas	45
4.2.8 Análise de dados e estatísticas	45
V- RESULTADOS	46
5.1 ARTIGO 1	47
5.2 ARTIGO 2	71
VI- LIMITAÇÕES METODOLÓGICAS	103
VII- CONCLUSÕES	107
VIII- RECOMENDAÇÕES	111
IX- REFERÊNCIAS DA TESE	114
X-APÊNDICES	130
10.1 APÊNDICE I- Questionário de Pesquisa- ARTIGO 1	131
10.2 APÊNDICE II -Termo de consentimento livre e esclarecido do artigo 2	134

10.3 APÊNDICE III–Formulário Pesquisa do artigo 2	136
XI-ANEXOS	143
11.1- Aprovação do comitê de ética do hospital da restauração	144
ARTIGO 1	
11.2- Aprovação do Comitê de Ética do Instituto de Medicina Integral prof Fernando Figueira- ARTIGO 2	144
11.3- Carta de anuência do hospital da Restauração- ARTIGO 2	145
11.4- Carta de anuência Secretaria de Saúde da Prefeitura da Cidade de Recife- ARTIGO 2	146

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1 - Citocinas como fatores prognósticos de doença respiratória	15
Quadro 2 - Escore radiológico de acordo com Khamapirad e Glezen	20

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Distribuição mundial das causas de óbitos em crianças menores de cinco anos	03
Figura 2 - Representação esquemática dos receptores de reconhecimento de padrões <i>Toll-like</i> (TRL) e suas localizações, ancorados na membrana celular e os respectivos ligantes (PAMPs) para os diversos patógenos	09
Figura 3 - Representação esquemática das diferentes vias de diferenciação das células Th0 com as citocinas indutoras da diferenciação Th1, Th2, Th17 e Treg e as principais citocinas secretadas.	11
Figura 4 - Mecanismo de Ativação de IL6	13
 Artigo 1	
Figura 1. Representação gráfica da seleção, perdas e estratificação em grupos da população do estudo	55
 Artigo 2	
Figura 1- Perfil de IL-6 e IL-10 na evolução de pacientes com pneumonia e pneumonia grave\muito grave	97
 Recomendações	
Figura 1. Fluxograma de atendimento para crianças com pneumonia em serviço de emergência.	113

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

Tabela 1 - Características demográficas de crianças segundo gravidade de pneumonia atendida na emergência do Hospital Restauração de Pernambuco, em 2011 62

Tabela 2 - Características clínicas e radiológicas de crianças com pneumonia de acordo com a gravidade clínica definida por presença de derrame pleural ao diagnóstico 62

Tabela 3 – Manejo terapêutico e complicações de crianças com pneumonia 64

Tabela 4: Desfecho relacionado a procedência e tempo de permanência hospitalar 65

Artigo 2

Tabela 1 - Características sócio-demográficas dos pacientes com pneumonia e pneumonia grave\muito grave 89

Tabela 2- Características clínicas em crianças com pneumonia e pneumonia grave atendidas em três unidades de pediatria em Recife. Brasil 90

Tabela 3 - Critérios de gravidade e Manejo terapêutico de crianças com pneumonia e pneumonia grave\muito grave 91

Tabela 4. Perfil de citocinas em crianças com pneumonia e pneumonia grave/muito grave à admissão, no terceiro e oitavo dias de tratamento	92
Tabela 5 – Correlação de sinais clínicos e níveis de Citocinas entre pacientes com pneumonia e pneumonia grave\muito grave	94
Tabela 6- Correlação de elementos do hemograma e níveis séricos de citocinas na admissão de pacientes com pneumonia e Pneumonia grave\muito grave	95
Tabela 7- Evolução temporal de sinais clínicos de pacientes com pneumonia e Pneumonia grave \muito grave	96

APRESENTAÇÃO

Ao longo dos anos muito se tem investido no conhecimento dos aspectos implicados na fisiopatologia da pneumonia, como fatores de risco, condições ambientais, do hospedeiro e do agente etiológico. O papel desempenhado por proteínas de fase aguda, como a expressão e o desequilíbrio entre as citocinas pró e antiinflamatórias, vem sendo associada com a gravidade clínicas das doenças respiratórias, sobretudo a pneumonia. A maioria dos estudos é realizada em adultos, com número limitado de pacientes e momentos diferentes de coleta, não estando estabelecido o seu real papel na gravidade da doença.

Classicamente os sintomas mais importantes para o diagnóstico de pneumonia são taquipnéia, tosse e febre. O atraso no diagnóstico e no início do tratamento pode elevar a morbimortalidade, sobretudo entre aqueles que tem menor disponibilidade de acesso aos serviços de saúde.

O critério de gravidade utilizado nesse estudo foi o definido nas **Diretrizes brasileiras em pneumonia adquirida na comunidade em pediatria – 2007**.

Neste estudo, tivemos como objetivo, descrever o perfil clínico dos pacientes com pneumonia de modo a identificar fatores que pudessem estar associados com a alta letalidade desta doença em nosso meio (Artigo 1).

Posteriormente, partindo-se da hipótese de que nas pneumonias agudas adquiridas na comunidade, um desequilíbrio na produção de citocinas, pró e antiinflamatórias, com produção exacerbada das citocinas inflamatórias como IL-6 e TNF, estivessem associadas a doenças mais graves, avaliamos se existe relação

significativa entre o perfil de citocinas no soro de crianças e adolescentes com pneumonia adquirida na comunidade, com manifestações clínicas e alterações do hemograma, que possam identificar as crianças com risco de desenvolver doença mais grave (Artigo 2).

Essa tese é apresentada na forma de um capítulo de revisão da literatura, um capítulo de métodos, dois artigos originais e as considerações finais. O artigo original 1 será submetido ao periódico *European Journal of Pediatrics* e o artigo original 2 ao *Pediatrics*.

Esperamos desta forma, contribuir para um melhor entendimento da doença, mas, sobretudo, contribuir para que os médicos que atendem crianças, em qualquer localidade, principalmente naquelas de recursos muito limitados, possam identificar pacientes com risco de desenvolver doença grave ou morrer, intervindo favoravelmente, no restabelecimento da saúde dessas crianças.

