



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

WASHINGTON ASPILICUETA PINTO FILHO

**PERFIL DE BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS DE HIDROCEFALIA
INFANTIL TUMORAL E NÃO-TUMORAL: INFLUÊNCIA DA ETIOLOGIA NA
RESPOSTA SISTÊMICA**

FORTALEZA

2021

WASHINGTON ASPILICUETA PINTO FILHO

PERFIL DE BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS DE HIDROCEFALIA INFANTIL
TUMORAL E NÃO-TUMORAL: INFLUÊNCIA DA ETIOLOGIA NA RESPOSTA
SISTÊMICA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Farmacologia. Área de concentração: Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Mariana Lima Vale
Coorientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Barros Jucá

FORTALEZA

2021

Ficha catalográfica

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Federal do Ceará

Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P732p

Pinto Filho, Washington Aspilicueta.

Perfil de biomarcadores inflamatórios de hidrocefalia infantil tumoral e não-tumoral : influência da etiologia na resposta sistêmica / Washington Aspilicueta Pinto Filho. – 2021.

149 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2021.

Orientação: Profa. Dra. Mariana Lima Vale.

Coorientação: Prof. Dr. Carlos Eduardo Barros Jucá.

1. Hidrocefalia. 2. Pediatria. 3. Hipertensão Intracraniana. 4. Tumor Cerebral. 5. Inflamação. I. Título.
CDD 615.1

WASHINGTON ASPILICUETA PINTO FILHO

PERFIL DE BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS DE HIDROCEFALIA INFANTIL
TUMORAL E NÃO-TUMORAL: INFLUÊNCIA DA ETIOLOGIA NA RESPOSTA
SISTÊMICA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Farmacologia. Área de concentração: Farmacologia.

Aprovado em: 27/08/2011.

BANCA EXAMINADORA

Profª. Dra. Mariana Lima Vale (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Carlos Eduardo Barros Jucá (Coorientador)
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

Prof. Dr. Paulo Roberto Carvalho de Almeida
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Paulo Goberlanio de Barros Silva
Centro Universitário Christus (Unichristus)

Prof. Dr. Vivaldo Moura Neto
Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer (IECPN)

Prof. Dr. Fabio Rocha Fernandes Távora

Universidade Federal do Ceará (UFC)

A todas as crianças com tumor cerebral. A
vocês dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida e saúde;

À minha amada esposa Saionara, por todo apoio e amor dedicados a mim e ao nosso lar. Obrigada em contribuir para a nossa união se tornar, cada dia, mais sólida. Amo a nossa família;

Aos meus amigos, cujo apoio e amizade estiveram presentes em todos os momentos;

À minha orientadora professora Dra. Mariana Lima Vale, por sempre me fazer pensar e questionar sobre o tema do meu trabalho de pesquisa. Grato pelo incentivo e presença constante por toda a paciência, empenho e sentido prático com que sempre me orientou neste trabalho. Meu muito obrigado!

Ao professor Dr. Carlos Eduardo Barros Jucá, pelo apoio técnico prestado durante todo o desenvolvimento do projeto e pelas constantes demonstrações de sabedoria e humildade;

Aos profs. Dr. Roberto César Pereira Lima Júnior e Dra. Deysi Viviana Tenazoa Wong, pelas colaborações no aprimoramento deste estudo;

Aos professores Drs José Arnaldo Motta de Arruda, Carlos Eduardo Barros Jucá e Danilo Damasceno Rocha, pela disponibilidade em participar da minha banca de qualificação e pelas contribuições no aprimoramento deste trabalho;

A todos os amigos do Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer, pela convivência diária e momentos de descontração, pelo apoio e ajuda na realização dos experimentos. Especialmente aos grandes pesquisadores Howard Ribeiro Júnior e Anacélia Gomes De Matos;

Aos professores da Pós-Graduação em Farmacologia, pelos ensinamentos e colaboração no meu crescimento profissional;

À Central Analítica e Unidade multiusuário da Universidade Federal do Ceará, pelo apoio técnico na realização das fotos de microscopia confocal;

A Universidade Federal do Ceará, esta instituição tão imponente, eu agradeço pelo ambiente propício à evolução e crescimento, bem como a todas as pessoas que a tornam assim tão especial para quem a conhece.

RESUMO

PERFIL DE BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS DE HIDROCEFALIA INFANTIL TUMORAL E NÃO-TUMORAL: INFLUÊNCIA DA ETIOLOGIA NA RESPOSTA SISTÊMICA

A hidrocefalia é a dilatação dos ventrículos cerebrais por obstrução líquórica, que pode evoluir para hipertensão intracraniana (HIC), evento muitas vezes fatal. A avaliação de citocinas sistêmicas e líquóricas poderiam melhorar o entendimento da injúria decorrente da HIC, principalmente, na presença de hidrocefalia crônica ou tumor obstrutivo (benigno ou maligno). Este estudo torna-se inovador, na pediatria, quando o fenótipo imunológico dos tumores é acrescentado na avaliação destes fenômenos. São poucos os estudos que tentam comparar a resposta das citocinas em injúrias cerebrais associadas ou não a tumores. O objetivo foi investigar os aspectos imunológicos da hidrocefalia tumoral (benigno e maligno) e não-tumoral em crianças submetidas a *shunt* ventricular por hipertensão intracraniana assistidas em um hospital terciário pediátrico da cidade de Fortaleza – CE, sendo um estudo prospectivo e observacional. Para isso foram selecionados pacientes pediátricos portadores de hidrocefalia decorrente de tumores cerebrais, hidrocefalia de origem não-tumoral submetidos a *shunt* ventricular, e pacientes saudáveis. Foram coletadas amostras de sangue e líquido durante cirurgia e dosados: IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 pelo método Elisa. As biópsias tumorais foram analisadas por imuno-histoquímica (marcadores CD4, CD8, CD20, CD45, CD45RO, CD68 e GFAP) e imunofluorescência (dupla marcação para M1: IBA1 + CD40, e para M2: IBA1 + CD206). Foram analisados oito pacientes benignos (astrocitoma pilocítico n=3; ependimoma n=2; papiloma de plexo coroide, n=1, neurocitoma n=1, e craniofaringioma, n=1); seis malignos (meduloblastoma, n=4; glioblastoma, n=1; e pinealoblastoma, n=1), quatorze hidrocefalia não-tumoral e 12 controles. Os resultados mostram que apesar da melhora clínica mais acentuada, o grupo hidrocefalia não-tumoral mostrou aumento de PCR, enquanto os grupos tumorais apresentaram retardo de melhora após *shunt*, menores aumentos de PCR e de leucometria sendo mais evidente no grupo de tumor benigno. Com relação às citocinas plasmáticas, observou-se aumento da IL-10 nos grupos com hidrocefalia, independente de causa, comparados ao controle (p=0,002). IL-6 mostrou valores menores no grupo de tumores benignos comparado aos outros grupos (p=0,001). No líquido, IL-18 apresentou valores mais elevados nos grupos de hidrocefalia, independente da causa, comparado aos controles (p=0,002). Na avaliação imuno-histoquímica, observou-se maiores expressões nos tumores malignos de CD8 e CD45RO, e na avaliação de imunofluorescência a polarização típica M1 ocorre nos tumores malignos e houve equilíbrio na relação CD40/CD206 nos tumores benignos. Os dados do presente estudo permitem concluir que a resposta sistêmica à HIC foi atenuada na hidrocefalia tumoral, sendo mais evidente nos tumores benignos e na hidrocefalia não-tumoral essa mudança foi mínima. Houve uma diferença na expressão de citocinas com o aumento da IL-10 sérica nos pacientes com hidrocefalia, independente de causa e diminuição da IL-6 sérica na hidrocefalia tumoral (benigna), o que pode explicar a resposta sistêmica, além do aumento da IL-18 líquórica nos grupos com hidrocefalia, possivelmente um reflexo de injúria cerebral da HIC. Os tumores malignos apresentaram polarização M1 para macrófagos/micróglia e a presença de linfócitos citotóxicos e células de memória, entretanto esses achados não tiveram relação com a resposta sistêmica esperada. Vale ressaltar que o estudo da associação de HIC (independente da causa), das citocinas do plasma e do LCR e da histologia, é inédito na literatura, principalmente na neuropediatria, além dos escassos estudos em animais neste sentido.

Palavras-chave: Citocinas. Hidrocefalia. Inflamação. Hipertensão Intracraniana. Pediatria. Tumor Cerebral.

ABSTRACT

INFLAMMATORY BIOMARKERS' PROFILE OF TUMORAL AND NON-TUMORAL CHILDREN'S HYDROCEPHALY: INFLUENCE OF ETIOLOGY ON SYSTEMIC RESPONSE

Hydrocephalus is a ventricular dilatation due to CSF obstruction, which could progress to intracranial hypertension (ICH), an event often fatal. The systemic and CSF cytokines evaluation could improve the knowledge from ICH damage, especially when chronic hydrocephalus or obstructive tumors are involved. In children, it's an innovation when the immunological phenotype of tumors are analyzed in this issue. There are few studies trying to compare the response of cytokines in brain injuries associated or not to tumors. The goal was to investigate the immunological aspects of tumoral (benign and malignant) and non-tumor hydrocephalus in children submitted to ventricular shunt due to HIC in a tertiary pediatric hospital from Fortaleza - CE, under a prospective and observational study. We selected children with tumoral hydrocephalus, non-tumoral hydrocephalus undergoing ventricular shunt, and healthy patients. Blood and CSF samples were collected during surgery and measured: IL-6, IL-10, IL-18 and IL-33 by Elisa method. Tumor biopsies were analyzed by immunohistochemistry (CD4, CD8, CD20, CD45, CD45RO, CD68 and GFAP markers) and immunofluorescence (double labeling for M1: IBA1 + CD40, and for M2: IBA1 + CD206. 8 patients with benign tumor were analyzed: astrocytoma pilocytic n=3; ependymoma n=2; choroid plexus papilloma, n=1, neurocytoma n=1, and craniopharyngioma, n=1); six with malignant tumor (medulloblastoma, n=4; glioblastoma, n=1; and pinealoblastoma, n=1), 14 non-tumor hydrocephalus patients and 12 controls. In our results, despite of better outcome, the non-tumor hydrocephalus group showed an increase in CRP, while the tumor groups showed a delay in improvement after shunt, the lowest CRP and leukometry increases were observed in benign tumor group. Regarding plasma cytokines, an increase in IL-10 was observed in the groups with hydrocephalus, independent of the cause, compared to the control group (p=0.002), IL-6 showed lower values in the benign tumour group, comparing to other groups (p=0.001). In CSF, IL-18 had higher values in the hydrocephalus groups, independent of the cause, compared to controls (p=0.002). In immunohistochemical evaluation, higher expressions of CD8 and CD45RO were observed in malignant tumors, and in the immunofluorescence evaluation, the typical M1 polarization occurred in malignant tumors and there was a balance in the CD40/CD206 ratio in benign tumors. The research data allow us to conclude that the systemic response due to ICH was attenuated in tumoral hydrocephalus, it was showed more evident in benign tumors, and in non-tumor hydrocephalus, this change was minimal. There was a difference in cytokine expression with increased serum IL-10 in patients with hydrocephalus, independent of cause, and decreased serum IL-6 in benign tumor, which may explain the systemic response. It was added to high CSF IL-18 in all hydrocephalus groups, possibly by a brain injury reflex from ICH. Malignant tumors showed M1 polarization to macrophages/microglia and high cytotoxic lymphocytes and memory cells, however, these findings were not related to the expected systemic response. We produced a highlight research, because the association of ICH (regardless of the cause), plasma and CSF cytokines and histology is high new in literature, especially in neuropediatrics, we detached that there are few animal studies in this focus.

Keywords: Cytokines. Hydrocephalus. Inflammation. Intracranial Hypertension. Pediatrics. Brain Tumor.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Esquema de hidrocefalia comunicante (a) e não comunicante (b), demonstrando o local de obstrução do fluxo liquórico.	21
Figura 2	– Curva da relação de pressão intracraniana em mmHg e volume intracraniano. Ponto de descompensação desta relação e ascensão da pressão intracraniana, consequentes riscos de herniação e hipofluxo cerebral.....	23
Figura 3	– Relação das injúrias primárias e secundárias no cérebro, liberação de citocinas pró e anti-inflamatórias e repercussão sistêmica. Alterações da micróglia por via clássica ou alternativa e fenótipo de respostas locais esperadas.	45
Figura 4	– Estruturas anatômicas envolvidas no suprimento do SNC e do fluxo LCR, e as portas de entradas de células imunes.	47
Figura 5	– Desenho de estudo do grupo hidrocefalia tumoral, com critérios clínicos, laboratoriais, qualidade de biopsia tumoral e composição de TMA do presente estudo.	65
Figura 6	– Desenho de estudo de pacientes de hidrocefalia não-tumoral e pacientes controles com os critérios de inclusão e exclusão.....	66
Figura 7	– Fluxograma de pacientes do grupo hidrocefalia e controle arrolados, excluídos e analisados na pesquisa.....	74
Figura 8	– Painel de imagens de tomografia (TC) e ressonância nuclear magnética (RNM) de crânio de pacientes pediátricos acometidos de hidrocefalia associada a tumores cerebrais primários e de hidrocefalia não-tumoral. A- papiloma de plexo coroide, B - astrocitoma pilocítico Grau I, C- meduloblastoma extensivamente nodular Grau IV D - outro astrocitoma pilocítico Grau I, E1 e E2- meduloblastoma pouco diferenciado, F e G - hidrocefalia de etiologia não-tumoral. H- hidrocefalia, índice de <i>Evans</i>	76
Figura 9	– Dosagem de IL-6 (A), IL-10 (B), IL-18 (C) e IL-33 (D) em amostras de plasma de pacientes com hidrocefalia tumoral benigna, maligna, hidrocefalia não-tumoral e indivíduos controles.	82
Figura 10	– Dosagem de IL-6 (A), IL-10 (B), IL-18 (C) e IL-33 (D) em amostras de líquido de pacientes com hidrocefalia tumoral benigna, maligna, hidrocefalia não-tumoral e indivíduos controles.	85

Figura 11 – Painel de imagens de imuno-histoquímica para marcação de CD4, CD8, CD45, CD45RO, CD68 e GFAP e histopatológico (HE) em tumores cerebrais pediátricos	91
Figura 12 – Análise da imunomarcção para CD40, CD206, IBA1 e co-localizações em amostras de tumores benignos e malignos de pacientes com hidrocefalia.....	93
Figura 13 – Painel de imagens de imunofluorescência de tumores cerebrais pediátricos benignos (astrocitoma e papiloma de plexo coroide) com ênfase no estudo de macrófago/micróglia.	95
Figura 14 – Painel de imagens de imunofluorescência de tumores cerebrais pediátricos malignos (glioblastoma e meduloblastoma) com ênfase no estudo de macrófago/micróglia.	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Níveis minimamente aceitáveis da pressão de perfusão cerebral (PPC) e valores normais da pressão intracraniana (PIC) em mmHg de acordo com a faixa etária. E definição de hipertensão intracraniana (HIC) quanto a significância e a severidade independentemente da idade.	26
Tabela 2 – Distribuição de frequência dos tipos histológicos tumores em pediatria (idades entre 0 e 19 anos).	33
Tabela 3 – Estudos pediátricos de macrófagos/micróglias em processos inflamatórios distintos, relacionados à hidrocefalia não-tumoral.	51
Tabela 4 – Marcadores imunológicos das células de defesa em sua diferenciação, outras nomenclaturas, função celular, tipo histológico com painel no SNC.	54
Tabela 5 – Painel histológico de marcadores do estudo dos tumores do SNC.	71
Tabela 6 – Caracterização descritiva das variáveis sociodemográficas e clínicas dos pacientes com hidrocefalia tumoral e não-tumoral.	75
Tabela 7 – Caracterização descritiva individual em relação à Pressão Intracraniana (PIC), tempo de avaliação pós-cirúrgica e quanto aos valores de <i>PCPC</i> e de <i>Glasgow</i> pré e pós-cirurgia derivação na associação intra e inter grupos.	78
Tabela 8 – Caracterização descritiva individual em relação à leucometria por mm ³ e a PCR em mg/L inter grupos (benigno <i>versus</i> maligno <i>versus</i> não-tumoral) ou intra grupo (pré -derivação ventricular e pós -cirurgia de ressecção tumoral)..	80
Tabela 9 – Comparação entre os níveis plasmáticos de IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 (valores em pg/mL) em pacientes com hidrocefalia tumoral benigna, maligna, hidrocefalia não-tumoral e indivíduos controles.	81
Tabela 10 – Análise de correlação de <i>Spearman</i> entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de Plasma de pacientes com hidrocefalia tumoral.	83
Tabela 11 – Análise de correlação de <i>Spearman</i> entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de Plasma de pacientes com hidrocefalia não-tumoral. .	83
Tabela 12 – Comparação entre os níveis de IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 (pg/mL) em amostras de líquido em pacientes com hidrocefalia tumoral benigna, maligna, não-tumoral e indivíduos controles.	84
Tabela 13 – Análise de correlação de <i>Spearman</i> entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de Líquor de pacientes com hidrocefalia tumoral	84

Tabela 14–	Análise de correlação de <i>Spearman</i> entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de Líquor de pacientes com hidrocefalia não-tumoral. ...	85
Tabela 15–	Análise de correlação de <i>Spearman</i> entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de plasma de pacientes com hidrocefalia tumoral benigna e maligna em relação aos parâmetros de PIC, PCR e leucometria.	86
Tabela 16–	Análise de correlação de <i>Spearman</i> entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de plasma de pacientes com hidrocefalia não-tumoral em relação aos parâmetros de PIC, PCR e leucometria	86
Tabela 17–	Análise de correlação de <i>Spearman</i> entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de líquido de pacientes com hidrocefalia tumoral em relação aos parâmetros de PIC, PCR e leucometria	87
Tabela 18–	Análise de correlação de <i>Spearman</i> entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de líquido de pacientes com hidrocefalia não-tumoral em relação aos parâmetros de PIC, PCR e leucometria.	87
Tabela 19–	Avaliação das dosagens de IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 (valores em pg/mL) em amostras de plasma e líquido na associação entre tumores benignos e malignos em pacientes com hidrocefalia tumoral.....	88
Tabela 20–	Avaliação de imunomarcações para CD4, CD8, CD20, CD45, CD45RO, CD68 e GFAP em tumores malignos e benignos em pacientes com hidrocefalia tumoral.	90
Tabela 21–	Avaliação de imunomarcações em percentagem de área com metodologia de imunofluorescência para CD40 e CD206, co-localização de CD40 ou CD206 com IBA1 e razão CD40/CD206 entre tumores benignos e malignos.....	92

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADAM	Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein
AP-1	Proteína ativadora-1
BHC	Barreira hemato-cefálica
BRAF	<i>V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B</i>
BSA	Albumina sérica bovina
CD	<i>Cluster of Differentiation</i>
DAMP	Padrão de moléculas associado a dano
DAPI	4', 6-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride
DVA	Derivação ventricular atrial
DVE	Derivação ventricular externa
DVP	Derivação ventrículo-peritonal
EMR1	Receptor de hormônio semelhante a mucina-1
ERK	<i>Extracellular signal-regulated kinase</i>
FSC	Fluxo sangüíneo cerebral
GFAP	Proteína ácida fibrilar da glia
HE	Hematoxilina/eosina
HIAS	Hospital Infantil Albert Sabin
HIC	Hipertensão intracraniana
HIF-1 α	Factor-1 α indutivo por hipoxia
HIV	Vírus da imunodeficiência humana,
HLA	Antígeno leucocitário humano
IBA-1	Molécula adaptadora de ligação de cálcio ionizado 1
IFN	Interferon
IL	Interleucinas
IRAKs	Quinases associados ao receptor IL-1
JAK	<i>Janus</i> quinase
Ki67	Marcador de proliferação nuclear
LAFICA	Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer
LCR	Líquido cefalorraquidiano
LPS	Lipopolissacarídeo bacteriano
MAPKs	Proteínas quinases mitogênio ativadas
MBP	Proteína básica da mielina
MHC	Complexo de imunocompatibilidade principal
MMR	Receptor manose de macrófagos

MyD88	Relacionada ao gene de resposta primária de diferenciação 88
NFκB	<i>Nuclear factor-κB</i>
NK	<i>Natural killer</i>
NPDM	Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos
NSE	Enolase específica do neurônio
PAM	Pressão arterial média
PAMP	Padrão de moléculas associado a patógeno
PCPC	<i>Pediatric Cerebral Performance Category</i>
PCR	Proteína C reativa
PIC	Pressão intracraniana
PPC	Pressão de perfusão cerebral
RAF	<i>Rapidly accelerated fibrosarcoma</i>
RNM	Ressonância nuclear magnética
S100-β	Proteína S 100 beta
SHH	Sonic Hedgehog
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Sistema nervoso periférico
ST2	Cadeia de supressão de tumorigênese 2
STAT3	Signal transducers and activators of transcription 3
TAM	Macrófago associado a tumor
TAMP	Padrão de moléculas associado a tumor
TC	Tomografia computadorizada
TGF-beta	Fator de crescimento tumoral
TIL	Linfócito infiltrando tumor
TLR	Receptores toll-like
TNF	Fator de necrose tumoral
TRAF6	Receptor TNF associação do fator 6
TTR	Transtirretina
UCH-L1	Hidrolase-terminal-ubiquitina-L1
VEGFA	Fator de crescimento vascular endotelial)
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1	Fisiopatologia da hidrocefalia e da hipertensão intracraniana	20
2.2	Hidrocefalia em pediatria	24
2.3	Avaliação neurológica em pediatria, sinais e sintomas de alerta	27
2.4	Neuroimagens para diagnóstico de HIC e de tumores cerebrais	29
2.5	Abordagem inicial da hidrocefalia em HIC	30
2.6	Tumores cerebrais em pediatria	32
2.6.1	<i>Tipos histológicos</i>	34
2.6.2	<i>Tratamento tumoral e sobrevida</i>	37
2.7	Neuroinflamação derivadas da HIC independente da causa	39
2.8	O papel das citocinas em condições de lesão neurológica e o sinergismo da presença tumoral	42
2.9	Migração de macrófagos e linfócitos no SNC e as células de defesa residentes	45
2.10	Ativação e polarização da micróglia, e a associação das células de defesa no microambiente injúria cerebral	47
2.11	Lesões não tumorais do SNC: infiltração e ativação de macrófagos/micróglia e de linfócitos	50
2.12	Marcadores das células de defesa no SNC	52
3	JUSTIFICATIVA	56
4	PERGUNTAS DE PARTIDA	57
5	HIPÓTESES	58
6	OBJETIVOS	59
6.1	Objetivo Geral	59
6.2	Objetivos Específicos	59
7	METODOLOGIA PROPOSTA	60
7.1	Delineamento do estudo, recrutamento dos pacientes e aspectos éticos	60
7.2	Seleção dos pacientes	61
7.3	Obtenção das amostras clínicas	62
7.4	Variáveis clínicas, laboratoriais, imagens e biopsia tumoral	63

7.5	Ensaio de imunobabsorvência ligado à enzima (ELISA) para citocinas	66
7.6	Análises histológicas	67
7.6.1	<i>Técnica do Tissue Microarray (TMA)</i>	67
7.6.2	<i>Hematoxilina e eosina</i>	68
7.6.3	<i>Imuno-histoquímica</i>	Err
		o!
		Ind
		ica
		dor
		não
		defi
		nid
		o.
7.6.4	<i>Imunofluorescência</i>	69
7.7	Análises estatísticas	71
8	RESULTADOS	73
8.1	Caracterização dos pacientes com hidrocefalia tumoral benigna e maligna	73
8.2	Dosagem dos níveis de interleucinas em amostras de líquido e plasma de pacientes com hidrocefalia tumoral benigna e maligna, e hidrocefalia não-tumoral	80
8.2.1	<i>Dosagem de IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de plasma de pacientes com hidrocefalia tumoral benigna e maligna, e hidrocefalia não-tumoral</i>	81
8.2.2	<i>Dosagem de IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de líquido de pacientes com hidrocefalia tumoral benigna e maligna</i>	83
8.2.3	<i>Correlação das dosagens de IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de plasma de pacientes com hidrocefalia tumoral benigna e maligna frente aos parâmetros de pressão intracraniana e de proteína C reativa e leucometria prévia à cirurgia de derivação</i>	86
8.2.4	<i>Correlação das dosagens de IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de líquido de pacientes com hidrocefalia tumoral benigna e maligna frente aos parâmetros de pressão intracraniana e de proteína C reativa e leucometria prévia à cirurgia de derivação</i>	87

8.2.5	<i>Associação da dosagem de interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de plasma e líquido na estratificação dos pacientes com hidrocefalia tumoral em tumores benignos e malignos</i>	88
8.3	Caracterização das imunomarcações para CD4, CD8, CD20, CD45, CD45RO, CD68 e GFAP, por imuno-histoquímica, e contagem celular em HE, na associação entre tumores benignos e malignos. E painel de imagens histológicas.	89
8.4	Análise da imunomarcação de CD40, CD206 e IBA1 e co-localizações por imunofluorescência em tumores benignos e malignos	92
8.5	Painel de Imagens	94
9	DISCUSSÃO	97
10	CONCLUSÃO	114
	REFERÊNCIAS	115
	APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO E ASSENTIMENTO	134
	APÊNDICE B – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	138
	APÊNDICE C – FICHÁRIO DE AVALIAÇÃO DO PACIENTE COM HIDROCEFALIA	139
	APÊNDICE D – DADOS DO GRUPO CONTROLE E HIDROCEFALIA NÃO-TUMORAL	140
	APÊNDICE E – TRATAMENTOS DE NEUROCIRURGIA, RADIOTERAPIA E QUIMIOTERAPIA REALIZADOS	141
	APÊNDICE F – DADOS DE PIC E LABORATORIAIS	143
	ANEXO A – TABELAS DE GLASGOW E PCPC	145

1 INTRODUÇÃO

A hidrocefalia é caracterizada pela dilatação dos ventrículos cerebrais por acúmulo de líquido. Na sua fisiopatologia, através do acúmulo do componente líquido, levaria a uma grave hipertensão intracraniana que pode ocorrer de forma súbita ou subaguda. Após esta pressão ultrapassar o ponto de descompensação, os fenômenos de isquemia cerebral e de compressão tecidual na caixa craniana podem se tornar fatais.

As etiologias da hidrocefalia na pediatria são variadas, podendo ser congênitas ou adquiridas. Os pontos de obstrução do fluxo líquido são as vilosidades aracnóides, nas hidrocefalias comunicantes, ou nas vias de conexão do sistema líquido, como terceiro ou quarto ventrículo e aqueduto cerebral, as últimas classificadas como não comunicantes. A ocorrência da hipertensão intracraniana necessariamente leva a realização de derivação ou *shunt* ventrículo-peritoneal, uma comunicação entre ventrículo lateral e o peritônio. Uma vez realizado o *shunt*, o paciente torna-se dependente desta derivação, sendo sua obstrução clinicamente nociva, necessitando de intervenções no sentido de sua desobstrução.

Existem dois modelos de obstrução do fluxo líquido. Em um modelo subagudo o paciente é dependente de *shunt*, devido a uma obstrução parcial, paulatinamente, o fluxo líquido é reduzido até a sua parada total. Enquanto em um modelo agudo, observa-se o paciente detentor de hidrocefalia secundária a um tumor cerebral cujo efeito de massa obstruiria o fluxo líquido, levando a obstrução súbita (Cavalcanti e Salomão, 2003).

O mecanismo de obstrução aguda ou subaguda pode ser demonstrado através de cefaleias, alterações visuais, náuseas e vômitos. Os recém-nascidos e as crianças menores podem apresentar abaulamento da fontanela aberta, facilitando o diagnóstico. Entretanto, tratando-se de pediatria, estes sinais e sintomas são insidiosos, visto que a criança menor, muitas vezes, tem dificuldade de referir estes sintomas, e ainda alguns sinais de hipertensão intracraniana se sobrepõem aos sinais de lesão intracraniana. Somado a isto, existem dificuldades em exames laboratoriais, uma vez que a barreira hematoencefálica necessita estar rompida para o diagnóstico sérico. Já a punção lombar, para avaliar o líquido, seria um procedimento que traria mais riscos que benefícios ao paciente. Por fim, o clínico depende de exames de imagens para melhorar seu diagnóstico.

Independente da causa da hipertensão intracraniana é necessário tratamento clínico e cirúrgico imediato no intento de reduzir a pressão em excesso. Em algumas ocasiões, a urgência neurológica é o primeiro sinal de presença de tumor cerebral nas crianças. Esta derivação precede o tratamento definitivo para estas neoplasias, que é a ressecção tumoral.

Independente da natureza benigna ou maligna dos tumores cerebrais, o melhor tratamento ainda se repousa na ressecção completa (Rekate, 2011).

Compreende-se que a hidrocefalia com aumento da pressão intracraniana possui um importante componente inflamatório, independente de sua causa etiológica, seja ela de origem tumoral ou não-tumoral. Todas estas manifestações de estresse ao tecido cerebral levam a ativação do sistema imune. Nas hidrocefalias crônicas, como as não tumorais, dependentes ou não de *shunt*, espera-se uma resposta inflamatória aumentada pelo caráter repetitivo de agressão ao sistema nervoso (Hagberg, Mallard *et al.*, 2015). Na situação de hidrocefalia tumoral, a presença do tumor altera a resposta imune pelo efeito de massa tumoral e pela polarização dos macrófagos/micróglia. Algumas vezes, tal situação facilita a progressão tumoral, como ocorre nos gliomas. O aspecto benigno ou maligno do tumor poderia orientar uma resposta diferenciada. Este assunto ainda é muito controverso, já que a hidrocefalia não-tumoral de longa data é uma patologia que cronicamente altera o sistema imune. Há certas semelhanças com as alterações imunes das neoplasias (Yang, Han *et al.*, 2010).

As citocinas tem papel importante na resposta imunológica da injúria cerebral por obstrução liquórica. Inicialmente, é observado ação pro-inflamatória após lesão aguda. No seguimento da restauração da homeostase, é esperado uma resposta anti-inflamatória para evitar o excesso de lesão do próprio sistema imune. Este balanço é desequilibrado com fatores como lesões residuais, neoplasias ou infecções. Os representantes da citocinas pro-inflamatórias são da superfamília da IL-1, incluindo IL-18 e IL-33, além do TNF-alfa e do interferon-gama. A IL-6 tem ações pró e anti-inflamatórias e ainda há as citocinas com ações anti-inflamatórias como IL-4, IL-10, IL-13 e TGF-beta. Estas substâncias influenciam os linfócitos e os macrófagos. Os linfócitos mostram fenótipos distintos para atividade fagocítica ou reparadora, conhecidos pela polarização Th1 e Th2. De forma semelhante, os macrófagos apresentam em polarização M1 e M2. Estas formas de variação promovem influências para os tumores e para o tecido cronicamente lesionado, demonstrado no microambiente de injúria. Para tanto, as respostas do sistema imune não se limitam ao sistema nervoso central, estas respostas se propagam para todo o organismo, libertando do antigo conceito de que o sistema nervoso estaria à parte do resto do organismo. Assim, a injuria aguda do cérebro por obstrução liquórica, derivados de hidrocefalia crônica ou tumoral, e os fenótipos das células imunes produzem um diferenciado perfil de citocinas gerado nas respostas cerebrais e sistêmicas (Hu, Leak *et al.*, 2015).

Diante disso, no presente trabalho, propõe-se investigar a participação das citocinas liquóricas e sistêmicas em pacientes com hidrocefalia tumoral e não-tumoral em condição de

hipertensão intracraniana. Ademais, propõe-se também fornecer respostas a respeito do estado histológico do tecido cerebral e polarização de macrófagos em hidrocefalias tumorais, comparando tumores benignos e malignos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fisiopatologia da hidrocefalia e da hipertensão intracraniana

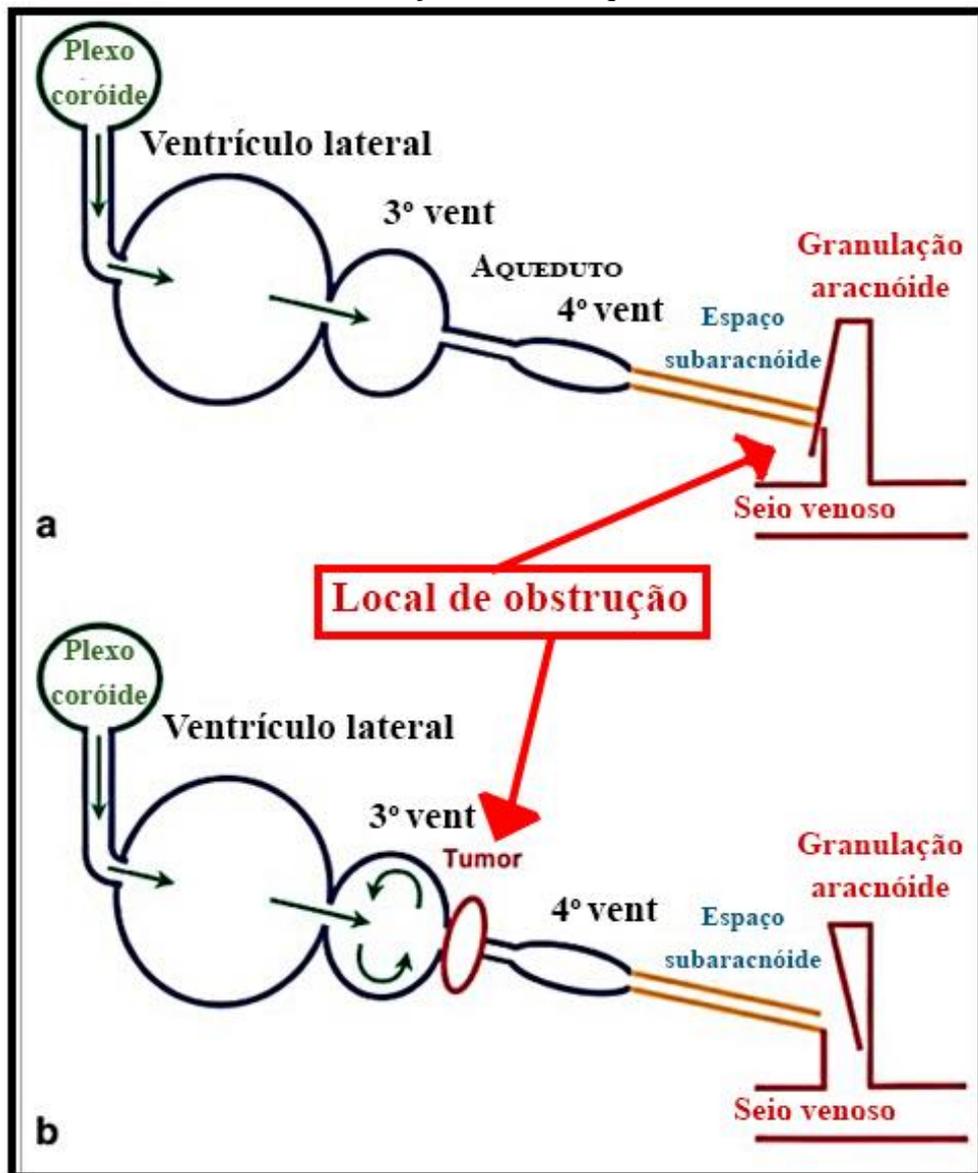
A hidrocefalia é uma entidade clínica caracterizada por um distúrbio da circulação do líquido cefalorraquidiano (LCR) que causa o seu acúmulo intraventricular, e consequente dilatação ventricular progressiva. A hidrocefalia, geralmente, acontece como consequência de uma obstrução à circulação liquórica, que pode ocorrer em vários locais de drenagem do líquido. Para a compreensão os mecanismos fisiopatológicos da hidrocefalia e sua consequente hipertensão intracraniana (HIC), necessita-se compreender o conteúdo intracraniano. Existem conteúdos importantes: o tecido cerebral (80%), o líquido cefalorraquidiano (10%) e o sangue (10%). A manutenção da pressão intracraniana (PIC) dentro dos valores normais depende da preservação do volume intracraniano. Qualquer destes conteúdos, em situação que provoque seu aumento de volume, obrigará à diminuição dos outros conteúdos, para que a PIC continue em homeostase. Neste processo de compensação, observa-se que a diminuição do volume do LCR e do sangue ocorrem mais frequentemente, pois o encéfalo é menos compressível (Giugno, Maia *et al.*, 2003).

A formação do LCR ocorre dos ventrículos laterais, flui para o terceiro ventrículo e daí para o quarto ventrículo, através do aqueduto cerebral. Então, o LCR sai pelos forames de Luschka e Magendie e alcança as cisternas basais. A partir deste ponto, o fluxo da LCR segue por dois caminhos importantes. O primeiro fluxo ocorre por via anterior, através das cisternas anteriores do tronco cerebral, e alcança a convexidade do cérebro. O segundo fluxo se dá por via posterior, onde o LCR sai do quarto ventrículo, circula pela cisterna magna, descendo para a medula no canal raquidiano em um movimento de entrada e saída na caixa craniana. Finalizando esse circuito, a absorção do LCR se faz, especialmente, pelas vilosidades aracnóides que penetram nos seios venosos intracranianos. Em menor quantidade, esta absorção ocorre também nas bainhas pia-aracnóideas que envolvem as raízes raquianas e os nervos cranianos. Por essa via, é possível atingir os vasos linfáticos situados fora das meninges (Krishnamurthy e Li, 2014).

Na figura 1, observa-se o mecanismo de obstrução mecânica das hidrocefalias. Independente da sua etiologia, existe um ponto de interseção da obstrução. No caso das hidrocefalias comunicantes, devido ao processo inflamatório, a absorção do LCR nas granulações aracnoide falha no ponto final de escoamento, acumulando todo o sistema liquórico. Nas hidrocefalias não comunicantes, a obstrução ocorre em algum ponto do sistema

de drenagem acima das granulações aracnoides. Os pontos mais sensíveis a obstrução são o terceiro ventrículo, o aqueduto e o quarto ventrículo cerebral. As estenoses de aqueduto são exemplos de obstruções congênitas e os tumores cerebrais de fossa posterior são exemplos de hidrocefalia adquirida. Uma vez tratado com derivação ventrículo peritoneal (DVP), o paciente torna-se dependente desta derivação, e uma vez obstruída, traz consequências ao mesmo (Greitz, 2004).

Figura 1– Esquema de hidrocefalia comunicante (a) e não comunicante (b), demonstrando o local de obstrução do fluxo liquórico.



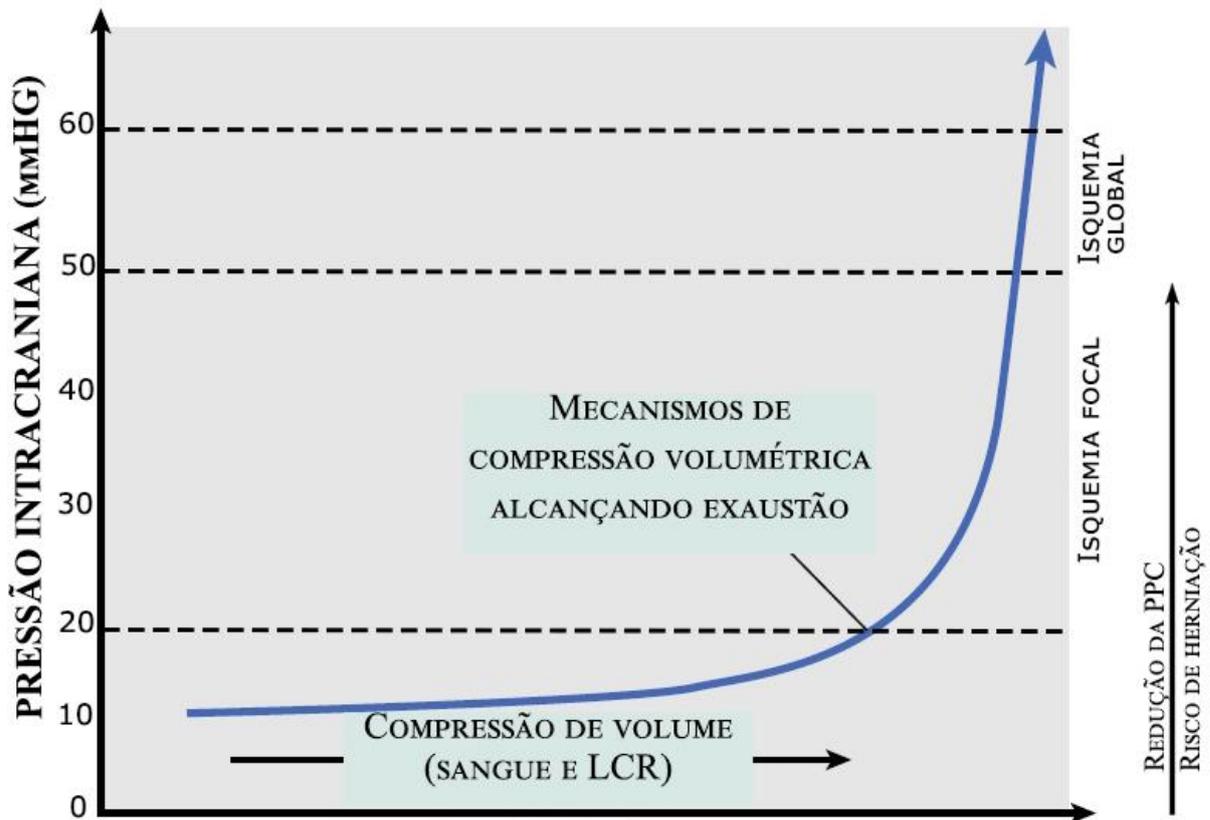
Observa-se a produção do LCR no plexo coróide e o escoamento na granulação aracnoide. LCR: líquido cefalorraquidiano. 3º vent: terceiro ventrículo cerebral. 4º vent: quarto ventrículo cerebral.

Fonte: adaptado de Greitz (2004).

As obstruções abruptas geram alterações bastante deletérias aos pacientes, indicando urgências médicas pela rápida descompensação da perfusão cerebral, do estado comatoso e da descompensação sistêmica. Essa descompensação diz respeito aos conceitos de pressão de perfusão cerebral (PPC) que é igual à diferença entre a pressão arterial média (PAM) e a PIC. O valor médio recomendado da PPC para a manutenção de um adequado fluxo sanguíneo cerebral (FSC) é de 50 mmHg. Valores de PPC inferiores a 50 mmHg levarão a um decréscimo proporcional no FSC. Através do fenômeno de autorregulação, é possível manter o FSC independentemente da PAM, dentro de certos limites. Porém, alguns insultos cerebrais podem comprometer a autorregulação do FSC e, assim, levar o cérebro a sofrimento (Bhalla, Dewhirst *et al.*, 2012).

Na figura 2, é demonstrado as relações de PIC, volume de LCR e perfusão cerebral. Existe um ponto de inflexão da curva da relação PIC e volume intracraniano, aproximadamente em 20 mmHg. A partir daí, os mecanismos compensatórios de redução de volume de LCR e sangue são exauridos e há uma ascensão da curva pressórica. Em concomitância, há redução de PPC e maior risco de herniações intracerebrais. Com a redução do fluxo sanguíneo cerebral, ocorrem áreas de isquemias no cérebro e, após o pico sustentado de PIC em 50 mmHg, haverá uma isquemia global com morte tecidual (Chan, Pole *et al.*, 2016).

Figura 2 – Curva da relação de pressão intracraniana em mmHg e volume intracraniano. Ponto de descompensação desta relação e ascensão da pressão intracraniana, consequentes riscos de herniação e hipofluxo cerebral.



LCR.: líquido cefalorraquidiano.
 Fonte: adaptador de Chan 2016.

O fluxograma de tratamento de injúria grave do trauma encefálico utiliza a pressão intracraniana como um dos pontos para auxiliar o tratamento, demonstrando como a aferição e o manejo da PIC são importantes para a sobrevivência a injúrias graves. Para situação de suspeita de hipertensão intracraniana em estados patológicos com lesão cerebral, obtêm-se o melhor diagnóstico através da monitorização da PIC. O tratamento otimizado da hipertensão intracraniana modifica a sobrevivência dos pacientes não apenas no trauma encefálico, mas, também, em várias situações clínicas. A HIC pode levar a lesão cerebral ou morte por dois mecanismos principais: 1) lesão hipóxico-isquêmica global, como consequência da redução da PPC e do FSC; e 2) distorção mecânica e compressão do tecido cerebral como resultado do efeito de massa intracraniana (herniação cerebral) e compartimentação dessa pressão elevada, justificada por motivos anatômicos, como a foice cerebral e a tenda cerebelar. Os valores de PIC servem de guia para o tratamento clínico e a indicação cirúrgica dos pacientes. Portanto, há um ténue limite para descompensação, onde a caixa craniana aceita uma máxima PIC antes da queda da perfusão cerebral (Barbosa e Cabral, 2003).

2.2 Hidrocefalia em pediatria

A hidrocefalia em crianças pode se apresentar isoladamente de forma congênita ou de forma adquirida, mediante a danos do sistema nervoso central (SNC). Há uma forte associação a defeitos de fechamento de tubo neural, como na mielomeningocele. A doença pode ser de etiologia de manifestação de alguma patologia atual ou subjacente, como tumores, infecções, hemorragias intracranianas e pós-traumas (Limbrick, Baird *et al.*, 2014).

Normalmente, as hidrocefalias classificam-se como comunicantes ou não-comunicantes, a última também referida como obstrutiva. A obstrução pode ser ao final do sistema liquórico, em obstruções da vilosidades aracnóides, classificado como hidrocefalia comunicante, ou no percurso deste sistema, classificado como não comunicante. As obstruções tumorais comumente ocorrem em ventrículos laterais, terceiro ventrículo, aqueduto cerebral ou quarto ventrículo. Em pediatria, os tumores cerebrais produzem hidrocefalia do tipo não comunicante. Nesse sentido, é esperado que até 2/3 dos tumores cerebrais primários sejam oriundos da fossa posterior ou da linha média craniana, aumentando as chances de obstrução ou dificuldades de drenagens do LCR (Zebian, Vergani *et al.*, 2017).

Uma classificação mais extensa foi proposta, houve uma ampla classificação baseada em três aspectos importantes: o paciente, o LCR e o tratamento. Nesta classificação, é apresentada com 10 categorias e vários subitens, foi proposta por Oi em 2011, é chamada *Multi-categorical Hydrocephalus Classification*. Sobre as características do paciente, temos o início da hidrocefalia, a causa da doença, os sinais e os sintomas dos pacientes, a presença de malformações ou as lesões do cérebro. Em relação ao LCR, esta classificação busca a fisiopatologia da retenção do fluxo liquórico, sendo classificados como dito anteriormente em comunicante e não-comunicante, por causas internas ou externas, de cronologia aguda, subaguda ou crônica, e de pressão intracraniana normal ou alta. Sobre o tratamento instituído, classifica-se como pós realização de *shunt* interno ou externo e pós cirúrgico de terceiroventriculostomia (Da Cunha, 2014).

Apesar desta classificação ampla e mais completa, é comum na pediatria a utilização de forma mista, baseada na classificação citada. Nos pacientes pediátricos, é habitual utilizarmos para o tempo de início de hidrocefalia a classificação em fetal ou infantil. Para causa da hidrocefalia, muitas vezes, observa-se a nomenclatura em idiopática ou associada a patologias, como pós-hemorragia, pós-meningite ou tumores. Quanto ao tipo de obstrução, prevalece as nomenclatura de comunicante (anteriormente chamada de não-obstrutiva) e não-comunicante (alguns autores ainda classificam como obstrutiva). É recomendado, utilizar uma

classificação mais ampla, descrevendo os aspectos importantes do paciente, da circulação do LCR e do tratamento a ser aplicado (Oi, 2011).

A hipertensão intracraniana em pediatria tem várias peculiaridades que tornam difícil o seu manejo. Como referência, aceita-se que os valores normais da PIC e de sua intensidade variam com a idade. Acredita-se que crianças menores possam suportar valores de PIC inferiores a 50 mmHg sem desenvolver isquemia. Diferentemente em adultos, uma PIC acima de 20 mmHg por mais de 20 minutos seriam valores e tempo deletérios para o cérebro adulto, mas por certa relutância, parcialmente, é aceitável para crianças. Considerando que a PIC varia com a idade, para recém-nato e lactente a PIC entre 8 e 10 mmHg estaria em valores normais, uma meta de valores abaixo de 5 mmHg. Em crianças menores, os valores de PIC entre 6 e 15 mmHg são considerados normais. Para crianças maiores e adolescentes, os parâmetros de monitorização com metas inferiores a 15 mmHg são considerados ideais. O ponto de corte para lesões irreversíveis é ainda incerto para várias faixas etárias. Por exemplo, as células imaturas dos neonatos são vulneráveis a lesões, devido a sua fragilidade. Assim a possibilidade de uma HIC significativa acima de 20 mmHg, por mais de 30 minutos, seria superestimada. Crianças e adolescentes possuem menor expectativa para HIC significativa, sendo alguns minutos de PIC acima de 25 mmHg capazes de gerar lesão cerebral. Dessa forma, pela falta de consenso de graus de HIC variando com a idade, é utilizada a avaliação do adulto quanto a HIC que pode ser leve, moderada e grave, com valores em ampla faixa de variação (Narayan, Mohammed *et al.*, 2018). Estas variações estão organizadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Níveis minimamente aceitáveis da pressão de perfusão cerebral (PPC) e valores normais da pressão intracraniana (PIC) em mmHg de acordo com a faixa etária. E definição de hipertensão intracraniana (HIC) quanto a significância e a severidade independentemente da idade.

Faixa etária	PPC (mmHg)	PIC (mmHg)	HIC significativa	HIC gravidade
Recém-nascidos e lactentes	30 – 40	Até 5	20 – 24 mmHg por 30 minutos	Hipertensão leve: 15 – 25 mmHg
Crianças	50 – 60	6 – 15	25 – 29 mmHg por 10 minutos	Hipertensão moderada: 25 – 40 mmHg
Adolescentes e adultos	60 – 70	< 15	> 30 mmHg por 1 minuto	Hipertensão grave: > 40 mmHg

PPC.: pressão de perfusão cerebral, matematicamente $PPC = PAM - PIC$, sendo PAM, a pressão arterial média.
 PIC.: pressão intracraniana. HIC.: hipertensão intracraniana.

Fonte: Barbosa AP. J Pediatr. 2003 Nov;79 Suppl 2:S139-48.

Na pediatria, os modelos fisiopatológicos de morte celular são semelhantes aos adultos. Os valores de gravidade de HIC demonstrado na tabela acima são variáveis, adaptados dos protocolos adultos sob trauma crânio-encefálico, entretanto, esta é uma condição de menor frequência na pediatria. Os fenômenos que levam a HIC são os tumores cerebrais, as infecções e as obstruções do fluxo líquóricos. Não seria possível para a população pediátrica uma precisão nas faixas de valores de gravidade de HIC, porque há grandes variações de faixas etárias e de neurodesenvolvimento. Apesar disso, utiliza-se a referência de gravidade de HIC dos adultos. Referido anteriormente, o SNC tem grande fragilidade, tanto no adulto como na criança. Desta forma, nos insultos cerebrais, a plasticidade do neurônio dos recém-natos e das crianças são tão reduzidas quanto nos adultos, trazendo consequências deletérias a longo prazo. Contudo, poderíamos evitar a morte neuronal com uma avaliação precisa e rápida destas condições de injúria cerebral (Kostovic e Jovanov-Milosevic, 2006). Ainda existem várias lacunas na literatura acerca dos mecanismos fisiopatológicos da obstrução do LCR, principalmente em pediatria. Sabemos que o mecanismo final é mecânico, entretanto, várias vias biológicas são modificadas na lesão ao cérebro, merecendo estudos mais aprofundados.

Outro ponto de grande dificuldade, é a avaliação clínica em pediatria, fato que retarda o diagnóstico.

2.3 Avaliação neurológica em pediatria, sinais e sintomas de alerta

Independente de classificação ou etiologia, a hidrocefalia e suas doenças associadas, como tumores cerebrais, trazem consequências sérias para as crianças. No diagnóstico de HIC, os sinais e os sintomas de alerta também variam dependendo da faixa etária. Para o recém-nascido, observa-se irritabilidade, fontanela anterior ampla e tensa, letargia, vômitos ou crescimento anormalmente rápido da calota craniana, todos estes são achados graves. As fontanelas, até seu fechamento no primeiro ano de vida, são importante para avaliação clínica. Após o segundo ano de vida, a criança menor apresenta de forma mais evidente a hidrocefalia e a tensão intracraniana. Na forma aguda, observa-se uma deterioração de sintomas de forma rápida e progressiva, com presença de cefaleias, vômitos, sintomas oculomotores, deterioração do nível de consciência, convulsões e edema de papila, todos são sinais de hipertensão intracraniana. Esta forma aguda ocorre nas crianças com diagnóstico novo de hidrocefalia sem tratamento prévio, nas crianças dependentes de derivação ventricular ou nas crianças com tumores de fossa posterior. No último exemplo citado, o quadro de hidrocefalia obstrutiva com HIC pode ser a primeira manifestação do próprio tumor. Estes achados também podendo ser insidiosos, de forma subaguda. A outra forma é a crônica, os pacientes podem apresentar cefaleias ocasionais que, lentamente e progressivamente, vão se tornando mais frequentes e intensas. Por fim, o clínico deve estar atento a outros sinais de alerta, como vômitos ocasionais, progressiva deterioração da marcha, alterações comportamentais ou sinais localizatórios de doença intracerebrais (Kahle, Kulkarni *et al.*, 2016).

Em situações não emergenciais, para o diagnóstico diferencial de hidrocefalia secundária de uma patologia intracerebral grave, o sintoma mais comum da clínica pediátrica é a cefaleia. A indicação de neuroimagens se justifica pela exclusão de diagnósticos importantes como meningites, hemorragias e tumores cerebrais. O sequenciamento de sinais de alerta da cefaleia no adulto é baseado na mnemônica na língua inglesa SNOOP (*systemic disease*, doença sistêmica; *neurologic symptoms*, sintomas neurológicos; *onset*, início; *occipital*; e *pattern*, padrão). Adaptando-se para a pediatria, achados anormais no exame neurológico, apresentação atípica de cefaleia, tonturas, vômitos intratáveis, despertar súbito com dor de cabeça, piora da dor, todos estes são pontos importantes para investigação profunda. Diante disto, ainda é desafiante a semiótica da pediatria. (Trofimova, Vey *et al.*, 2018)

A avaliação de uma criança em estado grave de enfermidade vai além do exame neurológico. Em criança envolvida em politrauma ou em rebaixamento de sensório, torna-se necessária a sistematização de sua avaliação e de intervenção globais por sistemas, incluindo o

neurológico. Tanto no suporte básico ou no suporte avançado de vida em pediatria, situações de oxigenação, circulação sistêmica, controle dos fatores desencadeantes afetarão o sistema neurológico (Maconochie, Bingham *et al.*, 2015). Nos protocolos de terapia intensiva, existe a necessidade de escalas de avaliação da criança comatosa ou sedada (causadas por trauma, isquemia, hipertensão intracraniana ou mesmo efeitos de massas encefálicas), a escala de Glasgow utilizada no adulto foi adaptada na pediatria, existindo correlações de respostas neurológicas dependentes da faixa etária, indo do recém-nato à criança maior (Reilly, Simpson *et al.*, 1988; Borgialli, Mahajan *et al.*, 2016). Contudo, escalas simplificadas de avaliação global e de avaliação cerebral possuem boa correlação, a escala *Pediatric Overall Performance Category* (POPC) e a escala *Pediatric Cerebral Performance Category* (PCPC) são de fácil aplicação e mantêm esta correlação, observados tanto em estudos nacionais quanto em estudos internacionais (Alievi, Carvalho *et al.*, 2007). Os pacientes pediátricos, mesmo em atendimento em unidades de urgência, possuem suas peculiaridades. Contudo, as crianças com dificuldades para realização de exame neurológico têm suas informações através de seus responsáveis e a inspeção, além da pertinência do examinador, como as bases para aferir a segurança diagnóstica de gravidade. (Jan, 2007)

Para um melhor sequenciamento do exame neurológico, é necessário incluir a pesquisa de pares cranianos, exame motor e sensitivo. O exame oftalmológico, na pediatria, traz para o clínico, informações muito valiosas, visto que vários pares cranianos estão envolvidos. No exame do fundo de olho, observa-se diretamente a relação dos vasos sanguíneos e indiretamente a pressão intracraniana (Lambert, Christiansen *et al.*, 2019). Para sinais e sintomas neurológicos de curso grave, o diagnóstico diferencial se faz presente quando estes estão associados à alteração de consciência e ao aumento da pressão intracraniana, uma vez estabelecida a difícil situação de HIC, sua aferição é guia para a terapia (Mackay, Monagle *et al.*, 2016). Uma das grandes dificuldades para estabelecer a medição e a monitorização da PIC é a necessidade de métodos invasivos para sua aferição. Sua avaliação deveria ser contínua, observando as variações numéricas e morfológicas. Isto é possível através do contato direto ou indireto entre o LCR e o transdutor de pressão, pelo espaço epidural, pela fontanela de recém-nascidos, pelo espaço subaracnóideo ou ventricular, sendo os dois últimos mais comuns. Há grandes possibilidades de infecções ou de obstruções do cateter, e raramente ocorrem hematomas. (Wiegand e Richards, 2007). Daí, a grande necessidade de monitorização não-invasiva e de estudo de neuroimagens. A ausência de marcadores laboratoriais para aferição de insulto cerebral é notório na neurologia pediátrica.

2.4 Neuroimagens para diagnóstico de HIC e de tumores cerebrais

Para diagnóstico de sofrimentos cerebrais em pediatria, existem métodos invasivos, citados anteriormente que possuem riscos de hemorragia e infecção, porém com boa acurácia. Já os métodos não-invasivos, como o doppler transcranial, o transdutor na membrana timpânica, a fundoscopia, o diâmetro da bainha do nervo óptico por imagens de tomografia computadorizada (TC) e a ressonância nuclear magnética (RNM), todos não possuem riscos de hemorragia ou infecção. A aferição é primordial para avaliação e prognóstico de crianças com sinais neurológicos de alerta. Existem outros métodos não-invasivos em estudo, entretanto, haveria necessidade de adaptar para pediatria e a aferição novamente tem menor acurácia que os métodos invasivos (Zhang, Medow *et al.*, 2017).

O estudo geral de neuroimagens de sofrimento cerebral pediátrico segue o modelo do adulto, principalmente, do trauma craniano-encefálico. No estudo tomográfico de injúria em pacientes comatosos, os escores de pontuação para HIC de Marshall, da década de 90, orientam quanto à observação das cisternas cerebrais, do abaulamento da linha média, do edema parenquimal e da presença de lesões acima de 25 ml (Marshall, Marshall *et al.*, 1992). Desta forma, para o correto diagnóstico para situações como hidrocefalia com HIC, é necessário incluir o exame neurológico completo da criança (incluindo a fundoscopia), a TC sem contraste emergencial ou a RNM, e se possível uma punção lombar (Ahad e Kossoff, 2008). Com auxílio da tomografia sem contraste, pode-se determinar o mecanismo fisiopatogênico e diagnóstico do sofrimento cerebral. Em situações que necessitem de maiores detalhes de imagens ou reconstrução de vasos e de estruturas nobres, a ressonância pode trazer mais informações (Raybaud, 2016). Em recém-nascidos e crianças menores através de fontanelas ainda abertas, o ultrassom é um método seguro, não-invasivo, com aparelhagem facilmente transportável. Esta tecnologia é útil para: o diagnóstico e o seguimento de hemorragias perinatais, infecções, abscessos, coleções e hidrocefalia (Garcia, Lederman *et al.*, 2011).

A TC é um método de rastreamento inicial, que possibilita observar sinais sugestivos de HIC, presença de cistos cerebrais, leucomalácia, infartos, máis-formações, alterações meníngeas ou tumores intracerebrais. Quando observadas dilatações ventriculares, é importante mensurar o índice de dilatação, como do índice de *Evans* (relação da medida nas imagens entre os tamanhos da maior distância interventricular lateral frontal e da maior distância de margem cerebral externa). Este index foi um dos primeiros parâmetros de imagens 2D que avalia o volume dos ventrículos cerebrais, é considerado como um dos índices mais utilizados na neurologia, principalmente na população adulta (Sarı, Sarı *et al.*, 2015). Existem

outros índices para a população infantil, o volume absoluto é muito importante para o reconhecimento do crescimento ventricular. Recentemente a relação dos cornos fronto-occipital (conhecido pelas siglas em inglês de FOHR- *fronto-occipital horn ratio*) tem ganhado popularidade neste quesito, justificado pela menor variabilidade na população pediátrica, notadamente na hidrocefalia (Ragan, Cerqua *et al.*, 2015). A tomografia no seu rastreo excluiria situações de urgências ou indicaria estudos para ressonância.

As neuroimagens de RNM podem sugerir vários diagnósticos tumorais, dependentes de vários fatores como idade, localização, características intrínsecas de lesões (calcificações, necrose, hemorragia, invasão, conteúdo cístico, dentre outros). Na localização, os tumores supratentoriais são, com maior prevalência, tumores primitivos do neuroectoderma, astrocitoma pilocítico e ependimoma. Na localização central do cérebro, observam-se os craniofaringiomas, os gliomas do trato óptico, os astrocitomas, os neurocitomas e os papilomas de plexo coróide. Na sela túrcica, temos os tumores da pineal, os germinomas e os tumores parenquimais. Na região da ponte e do mesencéfalo, observam-se os gliomas de baixo e alto grau (Panigrahy e Blüml, 2009). No entanto, os tumores localizados abaixo da tenda cerebelar são os mais frequentes na pediatria. Os tumores com maior frequência são os meduloblastomas, os ependimomas e os astrocitomas. Os meduloblastomas tendem a crescer do teto do quarto ventrículo ao velo inferior medular. As suas imagens de RNM parecem hipointensas em T2 comparado à substância negra, estes tumores tendem possuírem imagens heterogêneas como cistos, hemorragias, necroses e calcificações. Os ependimomas têm aparência restrita de tumor sólido ou misto (sólido-cístico) com alguns pontos de calcificação. Os astrocitomas parecem como massa sólido-cística ou hipodensa, demonstram em imagens hipovasculares e usualmente os cistos têm menor realce (Brandão e Young Poussaint, 2017). Normalmente, a RNM não é utilizada para aferir a PIC ou para avaliar a obstrução de DVP prévia. Mas o uso da RNM em hidrocefalias de outras causas é mais utilizado para objetivar um tratamento neurocirúrgico.

2.5 Abordagem inicial da hidrocefalia em HIC

A urgência do tratamento de HIC, no contexto, hidrocefalia depende da fase em que a criança se situa. Quando em fase assintomática, é indicativo que os mecanismos compensatórios estão atuantes. Nas fases iniciais da fase sintomática, os primeiros sintomas de alerta podem progredir para alterações de consciência e de frequência cardíaca e respiratória. Com a acentuação de HIC, pode ocorrer o rebaixamento do nível de consciência, a elevação da pressão arterial, a diminuição da frequência cardíaca e as alterações do ritmo respiratório. Em

fase de falência final, ocorre queda da pressão arterial, arritmias cardíacas e respiratórias, estado comatoso com midríase paralítica. E assim o paciente envereda para a parada cardiorrespiratória e o óbito. Assim que os primeiros sinais são revelados, o diagnóstico e o tratamento clínico devem ser iniciados. (Piatt e Garton, 2008)

Para o tratamento de HIC, procura-se, objetivamente, a redução da PIC com a redução do conteúdo intracraniano ou no aumento da cavidade da calota craniana. É realizado por meio de medidas clínicas ou cirúrgicas. Ao primeiro atendimento, eleva-se a cabeceira do leito do paciente de 30 a 45 graus, melhorando o escoamento do LCR. A hiper-reatividade cerebral é indesejada, faz-se necessária a prevenção de convulsões com uso de anticonvulsivantes. Do mesmo princípio de preservação energética e viabilidade dos neurônios, pode-se induzir o coma barbitúrico e a hipotermia (32 a 34° C). É importante evitar hipotensão arterial, restaurar as perdas líquidas e utilizar as drogas vasoativas. A redução do conteúdo hídrico encefálico é conseguido através da administração de soluções hipertônicas, como manitol, glicerol ou solução salina hipertônica. Estas soluções têm propriedades na pressão osmótica intravascular, aumentando-a, e assim deslocando a água do parênquima encefálico para o espaço intravascular. A dexametasona, um corticoide de intensa ação anti-inflamatória, reduz o edema peritumoral, a produção de LCR e produz pouca retenção de sódio. As medidas clínicas como decúbito a 30 graus, ventilação mecânica sob sedação e bloqueio neuromuscular, metas laboratoriais (hematócrito acima de 30%, sódio sérico entre 135 a 145 mEq/L, PCO₂ arterial de 30mmHg), drenagem de LCR, uso de manitol e dexametasona, e prevenção de convulsões, todas são consideradas tratamento de primeira linha. Quando as medidas de redução da PIC estão refratárias, empregam-se as medidas de segunda linha: hiperventilação (PCO₂ arterial com máxima redução para 25 mmHg), solução salina hipertônica, coma barbitúrico, hipotermia e craniectomia descompressiva, sendo a última mais utilizada em tumores e hematomas extensos. (Araki, Yokota *et al.*, 2017)

O tratamento, na maioria dos casos, é cirúrgico com a colocação de um *shunt*, que tem como objetivo drenar o LCR excedente do sistema liquórico para uma cavidade. Durante a realização de uma DVP, ocorre a colocação de um *shunt* que é um conjunto de válvulas unidirecionais e tubos que conectará o ventrículo dilatado ao peritônio. Outras opções de *shunts* são: a derivação para o átrio direito (DVA), a derivação ventricular externa (DVE) e a derivação lombar. Em raras situações, ocorre uma regressão espontânea ou temporal da obstrução liquórica que ocasiona o aumento da PIC, nestes casos, se o aumento for tolerável, pode-se optar por tratamento clínico para redução da PIC, evitando-se uma DVP ou DVE. (Whitelaw, Brion *et al.*, 2001)

Para aumentar as opções neurocirúrgicas, temos terceiroventriculostomia endoscópica. As principais indicações são estenose de aqueduto, e obstrução decorrente a tumores de fossa posterior com acometimento dos ventrículos. A abordagem endoscopia tem como principal vantagem em tratar a hidrocefalia sem que um material estranho venha a ser instalado no organismo. No entanto, nem sempre é possível utilizar esta técnica. (Di Rocco, Jucá *et al.*, 2013)

A instalação de *shunt* não é isenta de complicações. Em verdade, estas são as principais complicações neurocirúrgicas pediátricas no geral. As duas complicações mais frequentes são as falhas mecânicas e as infecções (Jucá, Lins Neto *et al.*, 2002). Dependendo da causa base da hidrocefalia ou da faixa etária, as complicações têm distintas evoluções. Os neonatos prematuros extremos com hidrocefalia causada por hemorragia, as crianças com tumores cerebrais, as crianças com passado de infecções no SNC, todos estes pacientes possuem um mau prognóstico em relação a futuras obstruções. Eles podem ter sequelas neurológicas a cada evento obstrutivo. Já as estenoses de aqueduto e hidrocefalia, decorrentes às má-formações cerebrais menores têm índices melhores de obstruções e alterações neurológicas. (Vinchon, Rekaté *et al.*, 2012). De modo geral, incluindo todos os tipos de hidrocefalia com dependência de derivação, a ocorrência de obstrução do *shunt* na maioria dos centros neurológicos de referência é alta, relatam até 40% dos pacientes apresentam a DVP obstruída mecanicamente no 1º ano, reduzindo a ocorrência em 50% em dois anos. Já a ocorrência de infecção é aproximadamente de 8% nos primeiros meses. (Browd, Ragel *et al.*, 2006)

Na literatura, o melhor momento de realização do *shunt*, em pacientes com hidrocefalia tumoral, é um assunto controverso. A instalação da DVP pode ser prevenindo ou tratando esta hidrocefalia secundária. Pode-se realizar o *shunt* antes, durante ou após ressecção de tumores de fossa posterior. Porém, uma vez que ocorra obstrução aguda, é necessário realizar *shunt* imediatamente (Silva e Aquilina, 2019).

2.6 Tumores cerebrais em pediatria

Os tumores do SNC representam a segunda maior causa de tumores malignos, em pediatria, e eles são a primeira maior causa de tumores sólidos. A incidência global de tumores no SNC, na infância e na adolescência, nos Estados Unidos, é de aproximadamente de 5,67 por 100.000 habitantes por ano (Udaka e Packer, 2018). No Brasil, os tumores infanto-juvenis, entre 0 e 19 anos, seguem a tendência mundial como leucemia (28%), tumores do SNC (26%) e linfomas (8%). Para todas estas neoplasias, o risco de óbito em pediatria é estimado para 4,44 casos para 100.000 habitantes (Ministério Da, 2017). Tal mortalidade é relativamente alta,

comparando-se outras doenças da pediatria. Ainda é considerado desafiante o combate ao câncer infantil.

Na estratificação dos tumores cerebrais da criança, observa-se uma maior incidência de tumores infratentoriais nas idades entre 4 e 10 anos. Entretanto, abaixo de 3 anos e acima de 10 anos, os tumores supratentoriais são os mais comuns. A faixa etária também influencia o tipo histológico, as crianças menores têm uma maior incidência de tumores de origem embrionária, como o meduloblastoma, e as crianças mais velhas tendem a apresentarem tumores de origem glial (Mcneill, 2016). Na tabela 2, observa-se a epidemiologia de tipos histológicos de neoplasias do SNC numa faixa etária variando de 0 a 19 anos, estes dados foram computados entre 2009 e 2013. Nesta faixa etária, os tumores do SNC mais frequentes foram os astrocitomas, os gliomas malignos e seus subtipos, os tumores pituitários e os tumores embrionários com seus subtipos, todos possuíam uma incidência acima de 10%. Dentre os tumores embrionários, o meduloblastoma teve sua maior incidência (64,3%), já os tumores teratóide atípicos e do neuroectoderma primitivo apresentaram uma menor frequência. No estudo epidemiológico derivado da tabela apresentada, houve uma estratificação para pacientes entre 0 e 14 anos e outra estratificação entre 15 e 19 anos. Na primeira estratificação, existiu uma maior incidência de tumores embrionários, gliomas e astrocitomas. Enquanto, na segunda estratificação de idades, os gliomas e os tumores pituitários ficam com incidência próxima de 30%. Desta forma, assemelhou-se ao que é observado nos adultos jovens. (Ostrom, Gittleman *et al.*, 2016)

Tabela 2 – Distribuição de frequência dos tipos histológicos tumores em pediatria (idades entre 0 e 19 anos).

TIPOS HISTOLÓGICOS	Porcentagem
Astrocitoma pilocítico	15,50%
Glioma maligno	11,60%
Tumores pituitários	11,30%
Tumores embrionários (incluindo meduloblastoma)	10,80%
Outros astrocitomas	8,20%
Tumores mistos	6,90%
Ependimoma	5,20%
Tumores de células germinativas	3,90%
Craniofaringioma	3,50%
Glioblastoma	2,90%
Meningioma	2,60%
Todos outros tumores	17,60%

Dados epidemiológicos (N=23.522 pacientes) obtidos do quadriênio entre 2009 e 2013, Estados Unidos da América, registro do CBTRUS (Central Brain Tumor Registry of the United States) Statistical Report.

Fonte: Ostrom, 2016.

A *World Health Organization* (WHO) organiza as classificações dos tipos histológicos dos tumores no SNC pediátrico. Como exemplo, o estudo anterior citado baseou-se na classificação de 2007. Atualmente, utiliza-se a classificação de 2016 que incorpora parâmetros de microscopia e biologia molecular. Observou-se na pediatria, mudanças, particularmente, nas categorias de alguns tumores, como o glioma pontíneo difuso, o ependimoma e os tumores embrionários. Resumidamente, o acréscimo de alguns marcadores biológicos na classificação sinaliza o potencial mutagênico destes tumores. Exemplificando, a mutação da K27M ocasiona um estado de hipometilação, modificando a transcrição genética dos gliomas da linha média, assim o potencial de dano celular estará aumentado. Para o ependimoma, a fusão oncogénica de C11orf95-RELA resulta na ativação aberrante da via *nuclear factor- κ B* (NF κ B), para tal alteração, é esperado um tumor mais agressivo. No meduloblastoma, os seus subgrupos aumentaram de quantidade após acréscimo de sinalizadores, como *nuclear β -catenin*, mutação da TP53, GAB1, *Yes*-associado à proteína 1, dentre outros. Logo, este formato de classificação propicia novas terapias para os subtipos de tumores e outras demandas de estadiamento e prognóstico. (Fuller, Jones *et al.*, 2017)

Além das informações de alterações genéticas acima citadas, outros tumores cerebrais pediátricos possuem outras mutações que propiciam a agressividade. Na mutação do proto-oncogene *BRAF* (*v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B*), há a codificação aberrante de uma proteína de mesmo nome que está, intrinsecamente, envolvida na cascata de sinalização da MAPK (proteínas quinases mitogenioativadas) e da *ERK* (*extracelular signal-regulated kinase*) quinases. A proteína BRAF é uma serina/treoninaquinase citoplasmática membro da família *RAF* (*rapidly accelerated fibrosarcoma*) que leva ao crescimento de tumores pilocíticos, xantastrocitomas pleomórficos e gliomas de baixo e alto grau. Para os gliomas de alto grau, além do estado global de hipometilação genético é significativo que alterações como mutações, amplificações, deleções e perda de heterozigocidade ocorreram em vários genes. Todavia, as alterações genéticas e cromossômicas são ocorrências que modificam a progressão tumoral. Portanto, muitos estudos ainda são necessários para inferir sua contribuição e para possibilitar o tratamento destes tumores. (Pollack, Agnihotri *et al.*, 2019)

2.6.1 Tipos histológicos

De forma didática e epidemiológica, os principais tumores cerebrais pediátricos localizados infratentorialmente e periventricularmente são os seguintes:

- a) Gliomas de baixo grau: são os tumores neurogliais que mais ocorrem na infância. São derivados e compostos de astrócitos exibindo vários graus de diferenciação. Dentre as variações, o astrocitoma é o mais comum, mais especificamente o astrocitoma pilocítico, se localizado no cerebelo, seria reconhecido como astrocitoma cerebelar. Os astrocitomas diferem em crescimento, aspectos histológicos, sítio de origem e manifestações clínicas. Entre os astrocitomas benignos, temos o astrocitoma pilocítico. São reconhecidos na escala de WHO como grau I, têm crescimento lento e raramente se infiltram nos tecidos adjacentes, sendo bastante circunscritos ao parênquima cerebral. Estão incluídos neste grupo, em menor frequência, o astrocitoma subependimal e o tipo difuso. O último possui maior celularidade e infiltração dos tecidos, podendo variar para um outro subtipo, o anaplásico. O astrocitoma do tipo difuso e do tipo anaplásico são considerados grau II pela WHO. Acrescenta-se a esta coleção de neoplasias, outras duas formas agressivas, o oligodendroglioma e o tumor misto neuronal/glial. O astrocitoma pilocítico raramente evolui para um glioma de alto grau. Entretanto, a localização e o crescimento gradual podem significar uma malignidade clínica destes tumores, tornando o prognóstico reservado (Chintagumpala e Gajjar, 2015);
- b) Ependimomas: eles têm sua linhagem originada da glia radial. Cinquenta por cento ocorrem durante a infância e a adolescência, podem se localizar supra ou infra tentorialmente, sendo o quarto ventrículo é a localização mais comum. A maioria destes tumores se manifestam de forma benigna. Desta forma, a hidrocefalia não-comunicante é a apresentação clínica mais comum. Segundo a WHO, o grau I inclui subependimoma, o grau II seria o tipo ependimoma (papilar ou clássico), o grau III seria o anaplásico. Os ependimomas geralmente não infiltram o tecido normal do cérebro, de modo que alguns podem ser completamente removidos cirurgicamente (Byer, Kline *et al.*, 2019);
- c) Craniofaringiomas: são tumores supra-selares advindos do tecido pituitário, são considerados tumores benignos. Podem também envolver a glândula pituitária, a sua apresentação pode ocorrer nas idades entre 5 e 10 anos. Na manifestação clínica, o paciente apresenta hidrocefalia com HIC, perda visual e doenças endócrinas. Na região afetada periventricular, a obstrução da circulação líquórica e algumas mutações podem afetar o prognóstico. Apesar de benigno, o seu crescimento contínuo afeta estruturas nobres adjacentes. Os tipos

papilomatosos e adamantinomatosos representam a sua histologia, e o último tipo tem maior taxa de recorrência (Bogusz e Müller, 2018);

- d) Tumores de plexo coroide: sua principal característica é a hidrocefalia devido superprodução de líquido. São neoplasias intraventriculares derivadas do epitélio do plexo coroide. Histologicamente, eles variam de uma forma benigna a uma forma bem diferenciada, para WHO, o grau I seria o papiloma de plexo coroide. Este tumor é composto por células epiteliais maduras no plexo coroide dos ventrículos. Os papilomas atípicos entrariam para o grau II, e o grau III seria os carcinomas de plexo coroide que possuem alta agressividade. Os dois últimos são raros (Paldino, Faerber *et al.*, 2011);
- e) Neurocitoma central: é um tumor relativamente incomum, na pediatria, restrito nos adolescentes. Tem crescimento limitado nos ventrículos cerebrais e próximos ao forame de Monro. É raro observar um agressivo, porém o achado de células com atividade mitótica, necrose, proliferação microvascular e rosetas de Homer-Wright indicariam o contrário. O curso clínico é benigno, na pediatria, a hidrocefalia e HIC são as manifestações maiores (Karthigeyan, Gupta *et al.*, 2017);
- f) Gliomas de alto grau: pela classificação da WHO, o tipo III (glioma anaplásico) ou o tipo IV (glioblastoma) apresentam um prognóstico reservado e um pouco melhor que nos adultos. Sua apresentação é mais frequente nas idades entre 6 e 7 anos. Outro tipo maligno é o glioblastoma multiforme, escala de WHO grau IV. Também existem os gliomas intrínsecos e difusos na localização de região pontínea. Estes fazem o prognóstico pior, mesmo quando, em biópsia, revela baixa invasividade. Tal fenômeno é justificada pela localização em estruturas nobres do cérebro e pela impossibilidade de acesso cirúrgico. Além disso, quando seu grau é alto, o seu prognóstico consegue ser piorado (Chintagumpala e Gajjar, 2015);
- g) Meduloblastoma: é um tipo de tumor embrionário maligno cerebelar, escala de WHO grau IV. É o tumor maligno mais comum da fossa posterior. Origina-se do vérmis cerebelar crescendo em direção do quarto ventrículo e hemisférios cerebelares adjacentes. Este tumor possui quatro variações geneticamente bem definidos pela WHO 2016. Os subgrupos são classificados como WNT, Sonic Hedgehog (SHH), grupo 3 e grupo 4. Para classificação de características histológicas, segundo WHO 2007, temos: o clássico, o desmoplásico/nodular, o

de nodularidade extensa e o anaplásico/grandes células. A histologia e a citogenética são importantes na avaliação original do tumor. Quando subtipo anaplásico é encontrado, observamos um prognóstico reservado. Os meduloblastomas de histologia clássica e geneticamente WNT, sem traços para os outros subgrupos, teriam um melhor prognóstico. Fora deste contexto, as outras variações possuem pior prognóstico (Millard e De Braganca, 2016);

- h) Tumor da pineal: representa menos de 2% dos tumores cerebrais, há grande dificuldade à ressecção neurocirurgia pela localização. A maioria do tipos histológicos são tumores de células germinativas, tumores de parênquima pineal, pineoblastomas e astrocitomas. O pineoblastoma tem características histológicas similares aos tumores embrionários, aos meduloblastomas e aos tumores neuroectodérmicos. A agressividade é entre intermediária e alta (Tate, Rutkowski *et al.*, 2011)

Uma maior gama de tipos histológicos participa desta classificação, porém sua frequência é baixa, dificultando o novo padrão de classificação genética. Ademais, quando os pacientes apresentam uma idade maior, os tipos histológicos também se modificam. (Louis, Perry *et al.*, 2016), (Malbari e Lindsay, 2020)

2.6.2 Tratamento tumoral e sobrevida

Excetuando os avanços nas imagens, nas condutas clínicas e nos marcadores da biologia celular, a neurocirurgia mantém-se como pilar do tratamento efetivo dos tumores cerebrais em pediatria. A cirurgia tem um grande arsenal para o tratamento tumoral que se estende entre as derivações do fluxo liquórico, as biopsias, as ressecções parciais e as ressecções completas da patologia. Existe um balanço entre a máxima ressecção cirúrgica e a tentativa de menor morbidade cirúrgica. Os planos de conduta pós-operatória estão balanceados entre a possibilidade de tratamento adjuvante como radioterapia e quimioterapia, e a história biológica do tumor. Nos últimos 20 anos, observaram-se todos estes grandes avanços, sendo que a terapia cirúrgica estaria na maior probabilidade de cura e do prolongamento de vida. Nos avanços tecnológicos das imagens, é possível um melhor planejamento pré e intra-operatório. As cirurgias endoscópicas possibilitaram acessos cirúrgicos mínimos, evitando a craniectomia, e as biopsias navegadas por *softwares* também evitaram o maior trauma à substância cinzenta. Contudo três pontos apontariam uma melhor condução da terapia curativa, e eles poderão um dia melhorar ainda mais a terapia e a sobrevida dos pacientes; a citar: as novas classificações

moleculares dos tumores, as novas modalidades de radioterapia e os avanços na quimioterapia.(Foster, Harishchandra *et al.*, 2018)

No tratamento radioterápico dos tumores cerebrais pediátricos, o maior impasse ocorre na radiotoxicidade dos tecidos nobres e na imaturidade do sistema em formação. Após o tratamento neurocirúrgico, a radioterapia é a segunda terapia que efetivamente modificou a curva de sobrevida destes pacientes. As crianças menores podem ser mais radiosensíveis, no entanto, estão aumentados os riscos posteriores de infecção e de obstrução dos *shunts* cerebrais e de sangramento intracerebral. Também é observada uma posterior queda no intelecto dos pacientes. A radioterapia hiperfracionada poderia diminuir esta queda do intelecto, quando comparado a radioterapia convencional (Roddy e Mueller, 2016). Os efeitos da radioterapia tornam-se temíveis nas crianças abaixo de três anos de idade. Os efeitos tardios de má-formação vascular cavernosa são silentes, existe um risco de hemorragia cerebral, próximo de 2% por ano, para os pacientes sobreviventes de tumores cerebrais que realizaram radioterapia com idade abaixo de 3 anos. E o tempo médio de detecção desta má-formação vascular é de 12 anos após a radioterapia cranial. Quando ocorre esta hemorragia, é de forma maciça, algumas vezes fatal para os pacientes, assim é prudente evitar radioterapia em pacientes abaixo de 3 anos. (Gastelum, Sear *et al.*, 2015)

Nos últimos anos, a quimioterapia vem ganhando algum papel no tratamento de tumores cerebrais pediátricos, os protocolos foram inicialmente desenhados a partir da impossibilidade e do risco da radioterapia a faixa etária abaixo de três anos. Estes protocolos se estenderam em outras faixas etárias, existe uma tendência para a combinação de neurocirurgia, radioterapia e quimioterapia (Mortini, Gagliardi *et al.*, 2013). Nos tumores de maior gravidade, como nos gliomas de alto grau, o papel da quimioterapia é incerto, a eficácia é modesta quando combinados a outras terapias. Os testes terapêuticos com quimioterápico isolado, como a temozolomida, para glioma de alto grau mostraram-se desapontadores. Por motivos de tolerabilidade e facilidade de administração, continuou-se o uso deste quimioterápico para pacientes pediátricos. Nos gliomas de baixo grau, protocolos de tratamento de combinação de carboplastina com vincristina são toleráveis, os resultados de sobrevida devem-se a outros fatores, como localização, margem de ressecção tumoral, biologia do próprio tumor, dentre outros. Já os tumores malignos, como meduloblastoma, a toxicidade da quimioterapia está adicionada à ressecção tumoral e à radioterapia aplicada. Tipicamente, em longo prazo, observam-se sequelas como mutismo, perda de audição, alterações metabólicas e déficits cognitivos. (Glod, Rahme *et al.*, 2016)

O prognóstico por tumor pediátrico varia entre centros de referência, faixa etária, subtipos histológicos e localização. O meduloblastoma tem sobrevida diferenciada, quando combinando ao tratamento cirúrgico, à radioterapia e à quimioterapia, a sobrevida ascende para 89% em cinco anos. A ausência de radioterapia pela idade reduz a sobrevida para próximos de 70% em dois anos. O paciente é categorizado como alto risco quando tiver uma dessas alterações, líquido positivo para tumor, metástase medular, tamanho de 1,5 cm², histologia de grandes células anaplásicas e idade abaixo de três anos. Esta categoria tem um prognóstico bastante reservado. Para o glioblastoma, o prognóstico é ruim, estando entre 5 a 20% nos grandes centros, a localização na ponte reduz a sobrevida para 12 meses. A sobrevivência melhora com o menor grau de agressividade tumoral. Os tumores malignos da pineal têm prognóstico ruim. Caso a agressividade do tumor for biologicamente diminuída, teremos resultados promissores através dos tratamentos adjuvantes. Nos tumores benignos como o astrocitoma, a neurocirurgia total produz uma sobrevida de 5 a 10 anos em 70 a 100% dos pacientes. A ressecção parcial associada à radioterapia diminui a sobrevida de 5 a 10 anos para 65 a 95%. O ependimoma possui um prognóstico dependente a ressecção total com estimativa de 5 anos entre 65 e 80%. Em ressecção parcial com irradiação associada, a taxa de sobrevida de 5 anos fica entre 22 e 47%. No craniofaringioma, a neurocirurgia total ou parcial com irradiação combinada revelam a probabilidade de 5 anos livres de tumor, na faixa entre 65 e 90%. E para o neurocitoma central, a neurocirurgia tem possibilidade de cura total. Por ser um tumor raro, a radioterapia e a quimioterapia são tratamentos em estudo. (Wells e Packer, 2015), (Kline, Felton *et al.*, 2018), (Parsa e Bruce, 2011)

2.7 Neuroinflamação derivadas da HIC independente da causa

O sistema imune do SNC era considerado um sistema à parte, principalmente, devido à barreira hemato-cefálica (BHC). As células de defesa do SNC são as micróglias, os macrófagos migrados, os linfócitos e os astrócitos. Porém, há extrema interação entre o neurônio, a BHC, as células coróides e o sistema imune; não sendo possível declarar que a imunidade do SNC está completamente à parte (Rivest, 2009). Qualquer processo que leve a injúria neuronal como trauma, infecção, isquemia, alterações bioquímicas endógenas ou exógenas, os mecanismos imunes de proteção ao agressor são ativados. Tipicamente e primeiramente, a ação citotóxica ocorre e, posteriormente, a citoproteção é acionada. Como o aumento da pressão intracraniana leva a isquemia e dano neuronal, ocorre ativação do sistema imune (Mietto, Mostacada *et al.*, 2015). Após a ativação do sistema pró-inflamatório, podem-

se considerar duas vias. Na primeira via, ocorre a resolução do processo nocivo com remodelamento celular, como na maioria dos eventos, ativando harmonicamente o processo pró e anti-inflamatórios. E na segunda, ocorre a apoptose celular, existe piora do processo inflamatório mesmo depois de cessado o fator nocivo. (Turtzo, Lescher *et al.*, 2014)

Uma vez que o sistema imune tenha sido ativado anteriormente, podemos esperar, numa segunda ativação, um processo maior. Tal situação é justificada por um recrutamento e uma resposta inflamatória superiores. Desta forma, danos maiores seriam esperados e maiores sequelas ocorreriam nestes pacientes. Estes achados se perpetuam por meses após o primeiro insulto. Por exemplo, uma criança que sofreu infecção do SNC, após a resolução do processo infeccioso e inflamatório, numa segunda afecção do SNC, como obstrução do sistema de drenagem liquórica ou nova infecção do SNC, haverá um processo inflamatório superior com sequelas maiores. Estes achados estão justificados pela memória imunológica e pela polarização dos macrófagos (Pierre, Smith *et al.*, 2017). Para situações como isquemia, é esperado polarização dos macrófagos/micróglia residentes do SNC do tipo I, pró-inflamatório. Quando comparamos lactentes a adultos, neste exemplo, observa-se uma maior ativação do sistema imune. A hipótese aventada é baseada nas barreiras imaturas, na plasticidade do sistema imune incipiente e nos mecanismos reguladores imaturos (Pierre, Smith *et al.*, 2017).

Pela heterogeneidade do processo fisiopatológico da hipertensão intracraniana, é impossível distinguir os vários processos de lesão neuronal. Por um lado, eles podem ser gerados por hipoperfusão, hipóxia ou convulsões; por outro lado, existe a ativação imune, seguido de migração das células de defesa e de liberação de substâncias pró-inflamatórias. Outros processos inflamatórios também poderiam ser citados. Em modelos animais de hidrocefalia, observa-se, durante a dilatação dos ventrículos, uma intensa reação da micróglia e dos astrócitos e uma ativação dos genes inflamatórios. O autor Deren e colaboradores demonstraram, em estudos em ratos neonatos, a seguinte informação; os ratos portadores de hidrocefalia após kaolin intra-tecal, tratados ou não tratados com *shunt* precoce, possuíam maior contagem de astrócitos que o grupo controle e mantinham processos gliais ativos para reparação. É sugerido, por estes autores, que o processo reativo continua mesmo com a implantação de derivação, e a presença de material estranho no cérebro era potencial deflagrador de mecanismos celulares de defesa. No mesmo estudo, observou-se no LCR aumento de IL-1beta, IL-6 e TFN-alfa com resultados piores em ratos não tratados e com hidrocefalia. A proliferação de células pluripotentes estava diminuída em ambos os grupos comparados aos controles. São incertos os mecanismos que perpetuam a ativação glial (Deren, Packer *et al.*, 2010). E deixando o assunto mais controverso, em outros estudos em animais,

outros autores observaram a situação inversa, uma vez que realizado o *shunt* cirúrgico de hidrocefalia, houve redução a reação de astrócitos e micróglia, diminuindo assim os fatores inflamatórios (Miller e Mcallister, 2007). Coloca-se que parece haver um microambiente pró ou anti-inflamatório dependendo da causa da hidrocefalia.

Sobre o sistema imune e os tumores cerebrais primários em pediatria, observa-se uma intrínseca relação entre fatores tróficos e tumores, que tornam possível a progressão tumoral mediante a sustentabilidade do sistema imune alterado. Dependendo do tipo tumoral, é comumente observada a migração de macrófagos, linfócitos e mastócitos. A polarização dos macrófagos/micróglia é diferenciada, há maior tendência para polarização tipo 2 e remodelamento celular, assim facilitando a progressão de tumor (Pollard, 2004). Uma vez acionado o sistema imune pelo tumor cerebral, é esperado alterações estruturais, funcionais e imunológicas de todo tecido cerebral, relação bastante estudada na perfusão peri-tumoral. Após exérese de todo tecido tumoral, são observadas várias sequelas nos tecidos próximo ao tumor e nos sítios distantes da cirurgia. O tecido circunjacente recebe o trauma cirúrgico, porém o hipofluxo resultante e o edema inicial retardam a recuperação cerebral como um todo. É necessário um longo período para melhora funcional (Li, Forkert *et al.*, 2017). Desta forma, observam-se várias alterações que levam a seguinte sequencia nócica, quebra de BHC, edema cerebral, hipoperfusão e dano cerebral. As alterações citadas são o crescimento tumoral, a invasividade e a destruição de tecido saudável e o aumento de massa dentro da caixa craniana restrita. Estes mecanismos justificariam, desta forma, todo o acionamento inflamatório (Esquenazi, Lo *et al.*, 2017).

Sobre o prognóstico, a relação da polarização do sistema imune e do tipo tumoral é ainda controverso. A resposta imune ativa e polariza as micróglia, porém o aspecto ativado não traduz ação antitumoral. Assim, é possível questionar a função das micróglia ativadas nos tumores, pois não se sabe qual fenótipo de células imunes levará ao crescimento tumoral. (Kennedy, Showers *et al.*, 2013)

Os tumores cerebrais realizam obstrução total ou parcial da via líquórica, principalmente, os de fossa posterior. Eles pioram o processo de dano cerebral, pois o edema peritumoral e o sequestro perfusional estarão adicionados a um outro componente, a hipertensão do sistema líquórico. Esta obstrução é esperada em vários momentos da evolução tumoral. Como dito anteriormente, a hidrocefalia tumoral obstrutiva, associada com hipertensão intracraniana, pode ser o primeiro momento de diagnóstico. Após a ressecção ou a biopsia tumoral, o paciente pode evoluir com obstrução do fluxo líquórico, hidrocefalia e HIC. Em percentagens, esperara-se que de 70 a 90% dos pacientes com tumor de fossa posterior

apresentem hidrocefalia, e apenas de 10 a 40% destes pacientes apresentem hidrocefalia persistente após ressecção do tumor (Lin e Riva-Cambrin, 2015). A presença de hidrocefalia complica o prognóstico dos pacientes. E ainda é incerto o papel da neuroinflamação decorrente da presença tumoral, principalmente, no contexto de hidrocefalia com hipertensão intracraniana. Em pediatria essa incerteza é ainda mais significativa.

2.8 O papel das citocinas em condições de lesão neurológica e o sinergismo da presença tumoral

Comumente as citocinas, grupo de moléculas envolvidas na emissão de sinais entre as células durante o desencadeamento das respostas imunes, são classificadas em pró-inflamatórias e anti-inflamatórias (Estes e Mcallister, 2014). No SNC, a sua produção (células do sistema imune e não-imune) e as suas ações não diferem do restante do organismo, excetuando durante o neuro-desenvolvimento. Nesta fase, que vai do período antenatal até os primeiros anos de vida, observa-se a ação negativa das citocinas pró-inflamatórias na extenuação das células neuronais progenitoras localizadas na região periventricular, e a estagnação de migração de neurônios para o córtex cerebral (Volpe, 2009). Esta ocorrência gera danos estruturais e funcionais para toda vida do indivíduo. Estas lesões estruturais e funcionais geram cicatrizes imunológicas por período indeterminado, quanto mais precoce, mais indefinido será o período. (Mcallister, 2012; Pardo, Farmer *et al.*, 2017)

As citocinas pró-inflamatórias são bem estudadas no SNC na pediatria. Mais recentemente vem sendo estudada em condições como a hemorragia intracraniana e a instalação de hidrocefalia neonatal; onde observa-se o aumento das citocinas (TNF-alfa, IL-1beta, IL-6, IL-8) indicando um mau prognóstico para os pacientes, comparados às hidrocefalias não-hemorrágicas. Estas alterações estão mais evidentes no LCR, entretanto, pela repercussão sistêmica, também se observa no plasma (Savman, Blennow *et al.*, 2002; Naureen, Waheed Kh *et al.*, 2014). Observa-se o mesmo contexto das citocinas pró-inflamatórias nas convulsões (Youn, Kim *et al.*, 2012; De Vries, Van Den Munckhof *et al.*, 2016) ou nos abscessos cerebrais, principalmente, quando observamos no papel da IL-6 no prognóstico das infecções (Heep, Schaller *et al.*, 2004). Especificamente, no processo de destruição das células progenitoras dos neurônios localizados na região periventricular, quando ocorre em crianças abaixo de 6 anos, observamos a toxicidade do interferon gama (IFN-gama) nestas células imaturas, inibindo-as, após um processo inflamatório (Folkerth, Keefe *et al.*, 2004). Numa situação de lesão cerebral, as células pluri-potentes, derivadas de estroma do cordão umbilical, poderiam ter ações reativas

e antagônicas ao IFN-gama, estes fenômenos reduziriam a destruição de células progenitoras. Em situação mais positiva, poderiam auxiliar o reparo celular. (Morioka, Komaki *et al.*, 2017)

Baixos níveis de IL-6 são esperados em cérebro sob condições fisiológicas. Um dramático aumento ocorreria em doenças neurodegenerativas, em isquemia e também em tumores cerebrais. A diminuição da IL-6 tem papel neuroprotetivo, visto nos modelos animais de trauma. No entanto, as características de regeneração neuronal ocorrem na presença desta citocina, tornando-a uma substância multifacetária (Rothaug, Becker-Pauly *et al.*, 2016). A ação pró ou anti-inflamatória parece depender da via de ativação, uma via clássica ativaria toda a rede de inflamação, já a via alternativa sugere a neuroproteção. Esta última via necessita do complexo proteínas de conjugação, específicas da via alternativa IL-6, e da interconexão de respostas de várias células, como a micróglia, o astrócito, e o neurônio. (Heese, 2017)

As citocinas anti-inflamatórias também são lançadas no SNC com papel de evitar o excesso de destruição inflamatória. Os fatores de crescimento de vasos, os fatores relacionados a hormônios, os fatores derivados de estroma celular e aqueles relacionados ao fígado, todos estes foram os primeiros fatores reparadores observados em lesões isquêmicas, traumáticas e infecciosas (Naureen, Waheed Kh *et al.*, 2014). Algumas citocinas mostram-se promissoras na melhoria da lesão tecidual e do agravo tumoral. Por exemplo, a IL-13 mostrou-se importante no tratamento de certos tipos tumorais, incluindo o glioma difuso pontíneo. Através dela, abriu-se espaço para a imunoterapia no câncer cerebral pediátrico (Kawakami, Kawakami *et al.*, 2004; Berlow, Svalina *et al.*, 2018). A IL-18BP, um receptor solúvel da IL-18, com ação antagônica a IL-18, em alguns modelos de proteção no trauma e na isquemia, observamos a sua ação protetora (Yatsiv, Morganti-Kossmann *et al.*, 2002; Sifringer, Stefovaska *et al.*, 2007).

Uma atenção especial para os processos nócicos do SNC é dirigida para família da interleucina 1. A subfamília da interleucina 1 é composta por produtos pró-inflamatórios, como a IL-1 alfa, IL-1 beta e IL-33 (alarmina), assim como pelo antagonista natural a IL-1RA. A IL-1 foi, primeiramente, estudada em episódios de sepse, juntamente com TNF-alfa. Estas conduzem relações semelhantes no SNC e são dependes da ligação ao inflamasoma, liberando a resposta danosa aos tecidos (Dinarello, 2018). A IL-33, na pediatria, tem um papel diferenciado na neurogênese e na inflamação, assim, torna-se difícil encontrar sua curva de normalidade. Enquanto na geriatria, sua alteração no tecido do SNC desencadeia processos degenerativos, já na neonatologia, observa-se que a IL-33 está relacionada à maturação do tecido cerebral. Nos processos de isquemia ou trauma cerebral, esta citocina leva a infiltração e a ativação das células imunes, e posteriormente, apresenta um papel de recuperação do tecido. Os estudos de bloqueio de sua função demonstraram resultados controversos. Ainda é necessário aprofundar o estudo

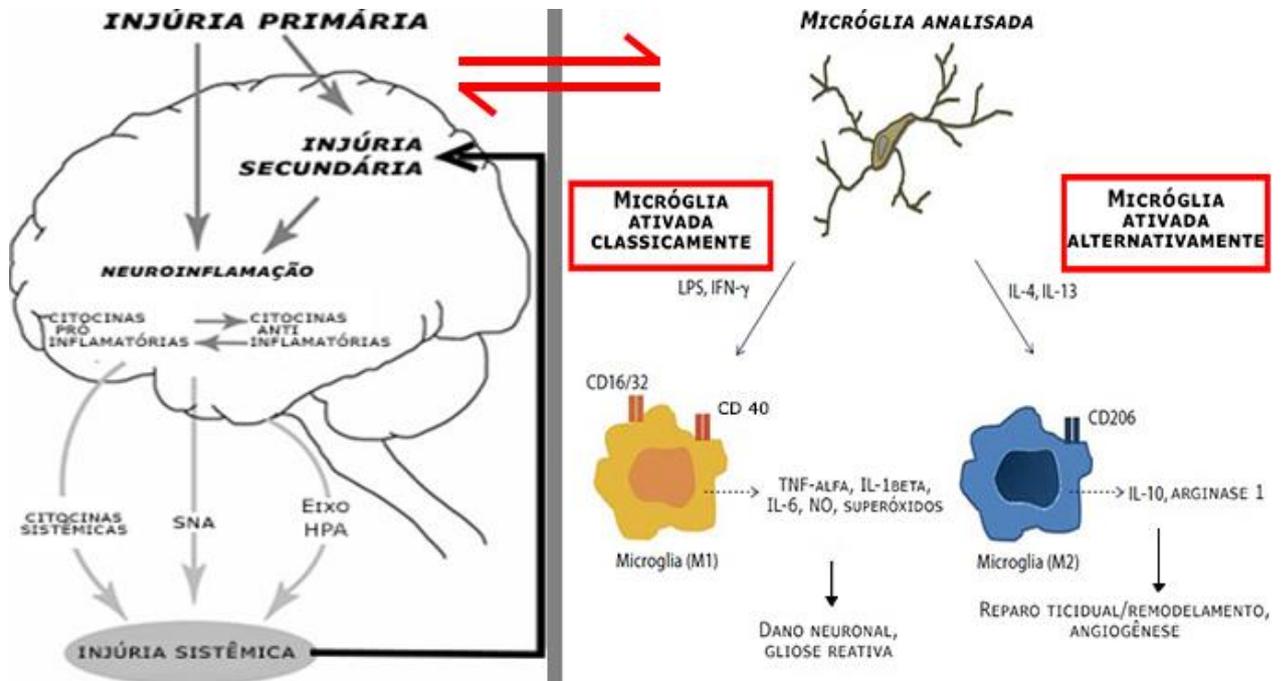
da IL-33 com a ST2 (cadeia de supressão de tumorigênese 2) na inflamação geral do SNC e na interação tumoral. (Fairlie-Clarke, Barbour *et al.*, 2018)

A próxima subfamília da IL-1 é da interleucina 18, constituída da IL-18 (pró-inflamatória), e das IL-37 e IL-18BP (anti-inflamatórias). Para a IL-18, vários modelos demonstram seu papel na inflamação. O aumento é observado em convulsões, trauma, infecções, má perfusão cerebral e hemorragias. Entretanto, um papel protetor no edema cerebral já foi demonstrado em ratos. Para tal fato, foi observada a interação do receptor da IL-18 na BHC juntamente com os astrócitos (Jung, Ryu *et al.*, 2012).

De forma coletiva para família IL-1 (IL-1alfa, IL-1beta e IL-33) e para subfamília IL-18, a progressão tumoral é promovida pela ativação da via MyD88 e da via de sinalização NF-kB (Zhang, Wang *et al.*, 2017). Os desencadeadores superiores são as moleculares apresentadoras de danos (DAMP), de patógenos (PAMP) ou de tumores (TAMP) e os receptores *toll-like* (TLR). Os receptores citados também fazem parte de uma grande família. Todos estes desencadeares levam grandes danos aos tecidos, quando ativados de forma desorganizada. O cume desta atuação equivocada seria a apoptose e a degeneração celular nos tecidos saudáveis. (Hanamsagar, Hanke *et al.*, 2012)

O organismo tenta evitar o excesso de inflamação, visto, principalmente, na segunda onda da fase inflamatória, onde é necessário um mecanismo anti-inflamatório. Para tanto, as células imunes lançam mão de meios de evitar o excesso de destruição, e promovem a resolução do dano primário e a reparação tecidual. Nesse entido, a IL-10 é considerada como uma citocina imunossupressiva quiescente. Este fator está relacionado a outros fatores supressivos encontrados na micróglia e no astrócito. A sua família de citocinas é composta por IL-19, IL-20, IL-22 e IL-24. Ainda que a IL-10 fica implicada em doenças autoimunes e câncer, na neurologia, está ainda como assunto incerto. Não se sabe sua regulação e seus papéis específicos nas infecções e nas neuroinflamações estéreis. Concretamente, a IL-10, a IL-19 e a IL-24, lentamente, limitam resposta da glia na inflamação, providenciando uma proteção contra o insulto (Burmeister e Marriott, 2018). Conforme a figura 3, observa-se que a hidrocefalia ou outras situações de agravo no cérebro possam um microambiente mutável e adaptável. Podemos citar com exemplos, uma hidrocefalia crônica de um processo inflamatório antigo com áreas de leucomalácia periventricular, ou uma hidrocefalia nova obstrutiva, formada por um tumor maligno. Nestas situações, haveria interação entre a resposta imune local, o ambiente cerebral de agravo, as células de defesa e a resposta sistêmica (Czeh, Gressens *et al.*, 2011). O agravo de HIC leva a consequências de um insulto sinérgico para o cérebro e o organismo com um todo.

Figura 3 – Relação das injúrias primárias e secundárias no cérebro, liberação de citocinas pró e anti-inflamatórias e repercussão sistêmica. Alterações da micróglia por via clássica ou alternativa e fenótipo de respostas locais esperadas.



CD.: *cluster of differentiation*, HPA.: hipófise-pituitária-adrenal. IL.: interleucinas. INF.: interferon. LPS.: lipopolissacarídeo bacteriano. NO.: óxido nítrico. SNA.: sistema nervoso autônomo.

Fonte: adaptado de Czeh (2011).

Como observado na figura acima, a injúria primária poderia ser a hidrocefalia crônica, o infarto cerebral ou os tumores. Enquanto a injúria secundária poderia ser o edema cerebral, a hipertensão cerebral ou a isquemia. A neuroinflamação poderia ativar uma liberação local de citocinas com consequências sistêmicas, como a produção sistêmica de citocinas, a ativação do sistema nervoso autônomo e do eixo hipofise-pituitária-adrenal. Esta relação também se estende para influenciar as micróglia, estas se adaptam conforme a influência do meio.

2.9 Migração de macrófagos e linfócitos no SNC e as células de defesa residentes

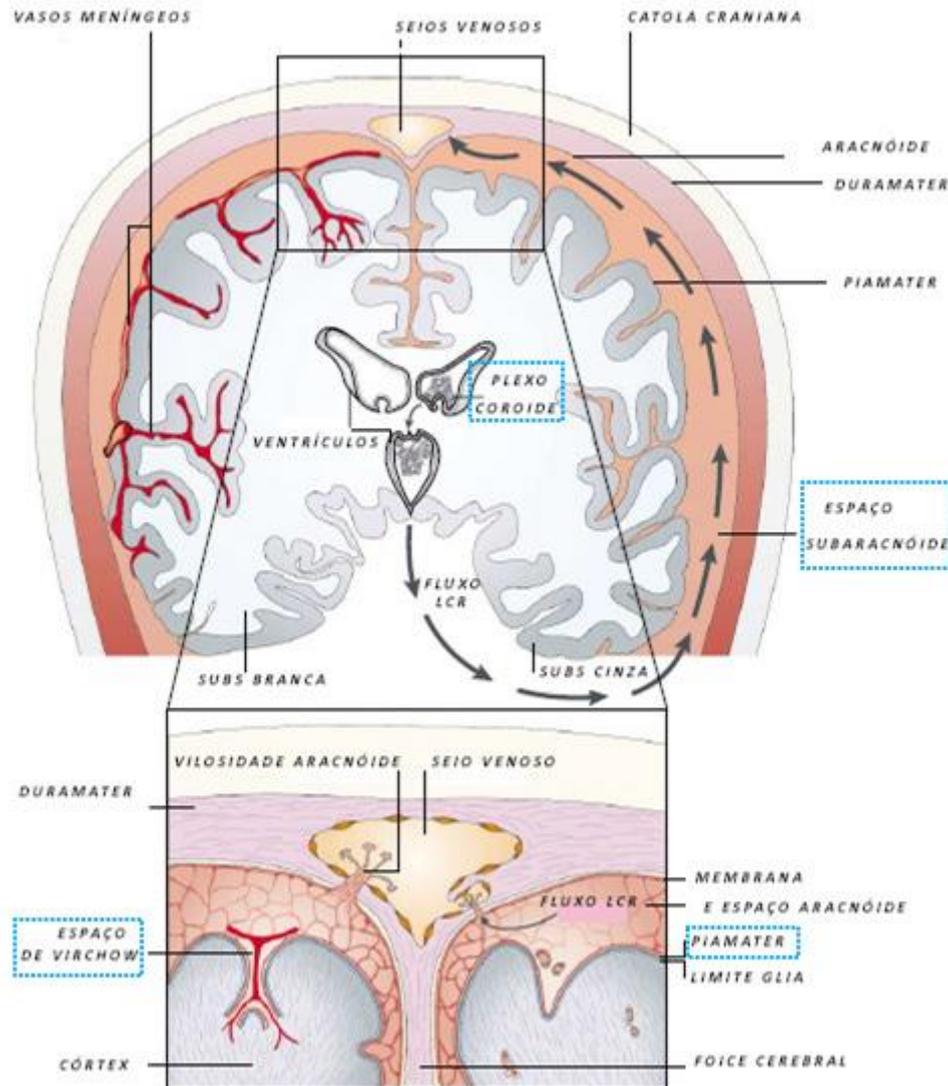
Apesar da micróglia, que são os macrófagos residentes do SNC, ter sido descrita há mais de um século, ainda existe grande debate quanto sua origem. Sob condições patológicas, a micróglia pode induzir vários tipos de diferentes origens. A micróglia residente parenquimal é originária dos macrófagos da pia-máter e dos progenitores mesenquimais, a micróglia se alterará para ativado quando em estado amebóide. Histologicamente, o estado de repouso é caracterizado pelo pequeno corpo celular com longas e finas ramificações. As esparsas

proteínas expressas na superfície estão associadas com a linhagem monocitomacrofágica. É usual, dependendo das mudanças no SNC, uma rápida ativação microglial. Uma vez insultado o SNC, os macrófagos podem invadir e colonizar o SNC, quando eles se tornam micróglia, estas apresentarão características de expressão de superfície distintas, além de disso, terão uma capacidade de lesão celular aumentada. (Ulfig, Bohl *et al.*, 2004)

Semelhante à formação da substância cinzenta do encéfalo, a micróglia progenitora ascende juntamente com os neurônios da zona periventricular para a zona cortical. No período embrionário e durante o desenvolvimento do SNC, a micróglia tem papel fundamental na fagocitose, no mecanismo de apoptose celular, na neurodiferenciação e na eliminação de excessos axonais, além de auxiliar os astrócitos em proliferação e angiogênese. Especialmente na inflamação do SNC, a micróglia tem grande papel na angiogênese (Wilson, Weninger *et al.*, 2010). O conceito do SNC como um sistema imune à parte ou privilegiado está em superação, demonstra-se grande interação entre a imunidade periférica e central, mesmo em modelos de injúria aguda do SNP (sistema nervoso periférico) como SNC, observam-se picos de citocinas, quimiotaxinas, e infiltração de macrófagos. (Leskovar, Moriarty *et al.*, 2000)

Acredita-se que existam 3 ou mais rotas de entrada de células imunes no SNC. A primeira rota seria do sangue para o líquido através do plexo coroide, sendo considerada a principal rota. A segunda rota seria do sangue para o espaço subaracnoide, a segunda mais importante, pois envolve o espaço subaracnoide e o espaço perivascular (também conhecido como espaço de Virchow-Robin). Este, como as membranas da pia-máter, desempenham papel importante no processo de migração, expressando selectinas para a ancoragem e o rolamento dos leucócitos. A terceira via seria do sangue, pela própria barreira hemato-encefálica, para o parênquima cerebral, vista na figura 4. Situação bastante reconhecida durante quebras de barreiras ou indução por inflamação. A outra via alternativa seria pelo tecido do cordão medular, este também faz parte do SNC. (Ransohoff, Kivisäkk *et al.*, 2003)

Figura 4 – Estruturas anatômicas envolvidas no suprimento do SNC e do fluxo LCR, e as portas de entradas de células imunes.



Possibilidade de migração através das vias dos plexos coróides, via entre o espaço subaracnóide e o espaço perivascular (Virchow), via entre as membranas da piamater, e a via da própria barreira hemato-encefálica. Sob pontilhado azul, mostram-se as vias de migração.

LCR.: líquido cefalorraquidiano. SNC.: sistema nervoso central.

Fonte: adaptado de Ransohoff (2003).

2.10 Ativação e polarização da micróglia, e a associação das células de defesa no microambiente injúria cerebral

O conceito de ativação clássica ou alternativa do macrófago, M1 e M2 respectivamente, mimetiza a nomenclatura das células T com regulação Th1 e Th2. Este conceito progrediu e solidificou-se com a intenção de melhorar a compreensão da fisiopatologia e a possível manipulação deste modelo. O novo conceito de bipolaridade dos macrófagos, dependendo do estímulo, transformando-se em M1 ou M2, e vice-versa, é relacionado ao

estímulo, gerando mudanças no ambiente tecidual para um fenótipo dos macrófagos. Entende-se que este paradigma não é binário, em uma população dos macrófagos haverá subpopulações coexistentes e subgrupos no fenótipo M2. Na polarização M1 (ativação clássica), o interferon-gama (IFN-gama) é a principal citocina estimuladora para esta ativação, a combinação com LPS bacteriana maximiza tal conversão. Outra citocina associada é o TNF-alfa, ambos os estímulos irão promover, para os macrófagos, uma resposta inflamatória tipo I, levando a destruição dos patógenos e também a resistência tumoral. Em nível celular esta resposta é similar àquelas por ativação dos TLRs, a exemplo do TLR4, levando a produção de mais citocinas inflamatórias (IFN-beta, IL-12, TNF, IL-6, e IL-1beta). Para os subtipos de M2, as respostas inflamatórias tipo II teriam características para inflamação crônica e para reparação celular, dentre outras respostas (alergia, regulação, decomposição de parasitas e promoção tumoral). A combinação da IL-4 e IL-13 levariam ao subtipo M2a (ativação alternativa), além de resposta tipo II, estaria relacionada a processo alérgico e a resposta para parasitas encapsulados. Na ligação entre o complexo imune e os TLRs, o subtipo M2b (tipo II) seria induzido e produziria resposta Th2. O subtipo M2c (desativado) tem característica a presença da IL-10 e dos glicocorticoides, e são relacionadas regulação imune e remodelação tecidual. Aceitam-se ainda o subtipo M2d, o macrófago/micróglia residente e o macrófago associado a tumor (TAM). (Martinez e Gordon, 2014)

As células de defesa do SNC, a população de micróglia, apresentam o mesmo comportamento dos macrófagos periféricos, porém de forma mais branda. Os macrófagos que adentram no SNC teriam um comportamento mais agressivo que a micróglia. Vários processos nócicos são causadores da ativação e da invasão dos leucócitos no SNC. No entanto, a diferenciação entre estas duas populações (macrófagos e micróglia) se torna difícil uma vez que estão sujeitas aos mesmos fatores e produzem respostas iguais, dentro do microambiente. A polarização dos macrófagos/micróglia tem as mesmas características apresentadas fora do SNC. As lesões ocorridas no SNC que possuem um padrão agudo, a não resolução do processo inflamatório é muitas vezes incompatível com a vida, mas uma vez solucionada, entra num processo crônico com sequelas permanentes. A própria hidrocefalia é um exemplo de seqüela da inflamação obstrutiva no sistema de fluxo de LCR (Lannes, Eppler *et al.*, 2017)

O microambiente de injúrias cerebrais é importante na diferenciação e polarização das células de defesa do SNC. A exemplo, o microambiente tumoral é caracterizado por nichos de vários complexos sistemas biológicos, sistemas constituídos de tecido do estroma do SNC (neurônios, células imunes, astrócitos, oligodendrócitos e vasos sanguíneos), matriz extracelular e células cancerosas. As células cancerígenas não são meras células com mesmo genoma

aberrante, estas células tumorais têm natureza heterogênea, e apresentam uma coleção de diferentes células que muitas vezes suportam o tumor. O tecido normal, uma vez alterado pelo câncer, perde a capacidade de reparação, e envereda para uma inflamação crônica. Esta influência negativa também ocorre na matriz extracelular que se forma. A nutrição dos tecidos é insuficiente, produzindo neovasos, estes últimos também se encontram anormais. Quando se instala inflamação crônica em cânceres, o sistema de reconhecimento celular para componentes estranhos falha para exclusão de células aberrantes no estroma. Este sistema danificado promoverá crescimento tumoral. Daí a importância dos macrófagos/micróglia e dos linfócitos interagindo no microambiente tumoral.(Byrd, Grossman *et al.*, 2012)

Para maioria dos tumores sólidos, a existência de macrófagos é vantajosa para o tumor tanto para seu crescimento como para suas metástases. Esta associação é conhecida como TAM. A primeira resposta esperada seria pró-inflamatória, destrutiva, por parte dos macrófagos, caracterizando polarização tipo M1. Após resposta adaptativa, os TAMs, que tem relação com IL-10 e TGF-beta, auxiliam o suporte tumoral, daí teriam características de polaridade M2. Ademais, é possível trocas de polarizações no decorrer da patologia, dependendo da interação com o microambiente do tumor. Como foi evidenciado nos primeiros estágios de tumores como o glioma (Wei, Gabrusiewicz *et al.*, 2013), os macrófagos/micróglia podem ser vistos em distintas localizações por recrutamento tumoral. Os locais mais importantes da migração são o núcleo tumoral, as regiões de necrose e as regiões de edema e de hipoperfusão peritumoral. É possível afirmar que a simples dicotomização, entre polarização entre M1 *versus* M2, não reflete a complexidade dos TAMs, pois a reprogramação celular é dinâmica, dependendo de diferentes estímulos. Os glioblastomas e os meduloblastomas são exemplos da migração e da ativação dos macrófagos sem promover a destruição tumoral. Estes fatos citados, sobre TAM, colocam estes assuntos ainda mais intrigantes. (Pasqualini, Kozaki *et al.*, 2020)

Já população de linfócitos intratumoral é bastante modesta, numericamente inferior comparado aos macrófagos. Funcionalmente, também vai de moderada a fraca sua atuação contra os tumores. Entretanto os linfócitos infiltrando tumores (TILs) têm destaque na neuroncologia. No mecanismo geral de proliferação tumoral, temos as células T regulatórias pró-carcinogênicas, capazes de produzir IL-10 e TGF-beta, o resultado é uma efetiva supressão imunológica. A infiltração de linfócitos em tumores cerebrais consiste basicamente de linfócitos T, e menor extensão em células NK e linfócitos B. A marcação genérica de CD3 engloba os linfócitos auxiliares T CD4 e linfócitos T CD8, como demonstrado nas TILs de meningiomas e gliomas. O prognóstico dos subtipos de células T varia bastante, pois altos

níveis de células CD8 são relacionados à boa atividade antitumoral, e altos níveis de células CD4 ficam com atividade pró-tumoral. O balanço entre Th1 e Th2 determina a influência dos TAMs. Por exemplo, a razão entre Th1 e Th2 é próxima a 1 em meningiomas, e esta razão tende para Th2 em gliomas. Estas características auxiliam na polarização das micróglia (Domingues, González-Tablas *et al.*, 2016). A infiltração linfocitária é reduzida nos glioblastomas. Por este e outros fatores, muitas vezes, este tumor é definido como imunologicamente “frios” pela ausência de atividade para células T. Fato semelhante ocorre nos meduloblastomas. Pela mesma forma, tornam o sistema imune inerte, e a consequência é o prejuízo quantitativo e qualitativo dos linfócitos, além da referida imunossupressão. (Foster, Madsen *et al.*, 2019)

2.11 Lesões não tumorais do SNC: infiltração e ativação de macrófagos/micróglia e de linfócitos

O estudo das células oriundas das lesões não tumorais em crianças, que levam às hidrocefalias, é apenas possível em casos excepcionais, como em autópsias e em raríssimas biopsias em vivos. O estudo das autópsias se divide em gestações interrompidas, abortos espontâneos, natimortos e óbitos no decorrer da infância. A literatura se estende a série de casos com comparações em cérebros fora da normalidade, sendo, impossível retirar dos grupos controles fatores como má perfusão ou hipóxia. Acrescenta-se a estes estudos, as análises de grupos de obstrução de cateteres de DVP e a celularidade diferencial do LCR. Para estudos mais elaborados, existem os estudos em animais, estes trazem modelos animadores com achados compatíveis aos humanos, produzindo alguns alvos terapêuticos para inflamação e mecanismos de prevenção de desfechos desfavoráveis. Os locais de estudos histológicos em humanos e em animais no SNC seguem a embriologia e a anatomia das regiões cruciais para o neurodesenvolvimento. São as zonas de células progenitoras e ependimárias, localizadas na zona periventricular; a zona intermediária, onde se encontra a substância branca; a zona cortical que possui o córtex cerebral. Os eventos em evidência são a infiltração e a polarização de macrófagos/micróglia, a infiltração de linfócitos, a formação de tecido cicatricial, a deformação dos vasos sanguíneos, a não migração de neurônios para a zona cortical, o desequilíbrio de apoptose celular e as alterações de produção e absorção do LCR (Mallard, Tremblay *et al.*, 2019). Na tabela 3, observamos alguns estudos pediátricos relacionados a infiltração e a ativação das células imunes decorrentes das lesões do SNC.

Tabela 3 – Estudos pediátricos de macrófagos/micróglia em processos inflamatórios distintos, relacionados à hidrocefalia não-tumoral.

Tipo de estudos no SNC	Comentários	Metodologia	Autores
Microscopia confocal de grumos obstrução de cateter de DVP.	Tendência para dois comportamentos: A- obstrução precoce (2 meses) com predominância de micróglia ativadas no lúmen do cateter; B- obstrução tardia, com predominância de astrócitos como base de sustentação para infiltração de células do plexo coróide e endimais.	Imunofluorescência (GFAP- astrócito, TTR- plexo coróide, IBA1- micróglia)	(Hanak, Ross <i>et al.</i> , 2016)
Análise seriada do LCR pós-trauma cerebral.	Crianças com drenagem líquórica tiveram o LCR analisado no 1º e 3º dia pós-trauma. Observaram-se CD163, ferritina elevados, indicando infiltração e ativação de macrófagos, enquanto sIL-2R α inalterado, indicando não infiltração de linfócitos no trauma agudo.	ELISA no LCR	(Newell, Shellington <i>et al.</i> , 2015)
Autópsias cerebrais de crianças com hidrocefalia crônica de diversas etiologias.	Nos ventrículos dilatados, observou-se destruição de células endimais, macrófagos em sua superfície digerindo debris. Nas zonas periventriculares e subependimais com espessura reduzida, presença gliose reativa. Os macrófagos abundantes foram observados nas zonas citadas e nas substâncias branca e cinzenta cortical com aspecto amebóide. Em outros casos, observou-se a micróglia em aspecto ramificado e ativado.	Imunohistoquímica (MBP, GFAP, CD68), HE, método de Marchi com impregnação de prata.	(Del Bigio, 2004)
Autópsias com microscopia confocal de prematuros extremos com leucomalácia e sequela de hemorragia cerebral.	A quantidade de micróglia estava aumentada nos pacientes com leucomalácia comparado aos pacientes apenas com pós-hemorragia. Relação aumentada para marcação CD68 comparada a CD45, mostrando maior conversão de macrófago para micróglia residente. As micróglia apresentavam predominância de aspecto amebóide e de ativação intermediária. Observou-se aumento de células TNF-alfa positiva, maior apoptose celular e pouca expressão de IL-10 para ambos os grupos.	Imunofluorescência (IBA1, CD68, CD45, caspase-3, Ki67-, TNF-alfa, e receptor IL-10.	(Supramaniam, Vontell <i>et al.</i> , 2013)

GFAP: proteína ácida fibrilar da glia; HE: hematoxilina/eosina; IBA1: molécula adaptadora de ligação de cálcio ionizado 1; Ki67: marcador de proliferação nuclear; MBP: proteína básica da mielina; TNF: fator de necrose tumoral; TTR: transtirretina.

Fonte: próprio autor.

Na sustentação das fases da inflamação, os fenótipos dos macrófagos/micróglia irão depender do microambiente, da região e do tecido cerebral que estas células se encontram. As micróglia possuem vários fenótipos espalhados pelo cérebro normal, são esperadas em condições patológicas variações deste perfil. Após a injúria aguda, é esperado o reparo celular. Uma situação de inflamação crônica é observada após diversas injúrias, como nas hidrocefalias pós-infecciosas, pós-traumáticas, pós-hemorragias, idiopáticas, dentre outras. Várias influências prorrogam o mecanismo, como a lesão prévia, a cicatriz imunológica, a presença de materiais estranhos no cérebro (como os cateteres), as infecções de repetições e a depleção de células progenitoras. A inflamação crônica trará algumas consequências de longo prazo, a principal é a alteração do sistema de vigilância do SNC, as outras condições são relacionadas a doenças neurodegenerativas e as lesões cerebrais, como cistos, leucomalácia e áreas cicatriciais. Em resumo, nas injurias citadas acima, vão além dos macrófagos, das micróglia e dos linfócitos demonstrando em modelos animais a resposta crônica adaptativa tipo 2. Também devem ser incluídos os astrócitos, os oligodendrócitos (células pluripotentes do SNC), e os neurônios. E como células de memória dos eventos nocivos, os linfócitos T perpetuam a informação (Leavy e Jimenez Mateos, 2020). A gama de células envolvidas no processo nocivo não-tumoral, nas devidas proporções, é comparável aos processos tumorais.

2.12 Marcadores das células de defesa no SNC

Nos estudos histológicos para pesquisa de classificação histopatológica para tecido cerebral e para pesquisas científicas, alguns marcadores de células de defesa dentro do SNC se sobressaem pela especificidade e pela variedade de marcação. O estudo do tecido cerebral rotineiro, fora do contexto de biópsia ou ressecção tumoral, é raro. Os modelos animais substituiriam a necessidade de lesão cirúrgica em humanos. Nos estudos de tumores cerebrais, a marcação de células de defesa, como micróglia, macrófago, linfócitos e células da glia, cada vez mais se tornam importantes na caracterização da relação de tumores com estas células de defesa. Novas linhas de pesquisa utilizam o sistema imune para verificar a progressão de tumor, no entanto, a nova classificação da WHO de 2016, não inclui marcadores imunológicos. (Guerreiro Stucklin, Ramaswamy *et al.*, 2018)

No processo da linhagem linfóide de células T, estas células precursoras têm característica inicial de ter marcação para CD34. No processo mais adiantado, quando se prepararem para uma maior diferenciação, irão aparecer marcações para o CD8, que é característico de célula T citotóxica, e marcações para linfócitos auxiliares com marcações para

o CD4. E ambos os tipos celulares têm marcação para CD3 (Parkin e Cohen, 2001). O marcador CD8 é co-receptor que se combina com MHC (complexo de imunocompatibilidade principal) classe I para a ativação do linfócito T citotóxico. (Shortman e Heath, 2010). Já o marcador CD4, através de sua interação com MHC classe II, é envolvido na seleção tímica, na ativação das células Th e sua diferenciação. Este marcador está expresso nas células T auxiliares e nos tímocitos, porém também é possível localizar em menor expressão em células dendríticas, células NK, monócitos, macrófagos, neutrófilos e eosinófilos. O marcador é classificado como uma glicoproteína transmembrânica tipo 1 da superfamília de imunoglobulina (Ellmeier, Haust *et al.*, 2013). E na linhagem de linfócitos B, os precursores também têm marcação para CD34, sendo CD19 o marcador expresso nas células imaturas e maduras. Nas células B maduras e nos estágios finais das células pré-B, temos a expressão de CD20, um importante marcador celular, e base de tratamento imune de certas doenças clonais. Este marcador é uma fosfoproteína integral tipo III pertencente da família *membrane-spanning* 4A e que, até o momento, não foram descritos seus ligantes. (Glennie, French *et al.*, 2007)

Um marcador que é particularmente conhecido como antígeno comum dos leucócitos, é o CD45. Estruturalmente, é glicoproteína transmembrânica e um receptor proteico com ação tirosino-fosfatase. É um marcador encontrado em todas as células hematopoéticas nucleadas, estando ausente nos eritrócitos e plaquetas. As isoformas do CD45 (CD45RB ou CD45RO), possuem funções importantes para as células de defesas, como ativação das células T e das células T *Naive*. Das outras isoformas, o CD45RO é reconhecido como marcador de linfócitos T de memória e de células mielóides. A isoforma CD45RA é encontrada na ativação dos linfócitos B e T, células NK e monócitos (Saunders e Johnson, 2010). Para os linfócitos ativados pelo receptor CD45, normalmente, é observado modulação das células de defesa. Entretanto, especificamente, na micróglia e nas células neurais, são necessários estímulos de grande magnitude para obter alguma resposta no SNC. (Cosenza-Nashat, Kim *et al.*, 2006)

A micróglia, que é macrófago residente do SNC ou o macrófago migrado, possui marcadores bem consolidados. O microambiente determina a diferenciação e a função da micróglia. Entretanto, no intuito de caracterizar estas células, é necessário um painel de marcadores. O marcador EMR1 (análogo humano de F4/80) traduz a funcionalidade do macrófago, como fagocítica. Outro marcador, o CD68, amplamente expresso nas várias conformações dos macrófagos, tem grande serventia nos estudos de localização de macrófagos em vários tipos de tecido. Já o receptor manose CD206 é um marcador diferenciado para o macrófago, pois este é observado em condições de inflamação crônica e reparo celular. Mostra-se um bom indicador de polarização de macrófago para M2 (Gordon, Plüddemann *et al.*, 2014).

A proteína de membrana CD40, receptor da família TNF, é um indicador da indução de macrófagos em estado pró-inflamatório. O agonista do CD40, CD156 ou CD40L, é capaz em certas circunstâncias de transformar um estado pró-tumor M2 para um estado antitumoral M1 (Beatty, Chiorean *et al.*, 2011). Duas proteínas têm boa correlação na sua distribuição e na sua heterogeneidade dentro do SNC, são elas, EMR1 e IBA1. A primeira proteína está localizada na membrana da micróglia e a segunda é uma molécula adaptadora de ligação de cálcio ionizado 1 (IBA1). Este é especificamente expressa na micróglia e desempenha um papel importante na regulação da função da micróglia, como seu estado de ativação e sua modificação do citoesqueleto. É comumente utilizado em vários estudos científicos e já foram identificados estudos em senilidade, inflamação, processo fagocitário, doenças neurodegenerativas e tumores cerebrais. (Verney, Monier *et al.*, 2010)

Na tabela 4, tem-se o resumo dos principais marcadores celulares. Na diferenciação, algumas vezes é necessário um painel de marcadores para a indicação da histologia das células imunes. Mesmo macrófagos ou linfócitos que adentram para compor a população residente do órgão passam por processo de maturação e diferenciação. Estes perfis auxiliam no entendimento no processo inflamatório em que o órgão está.

Tabela 4 – Marcadores imunológicos das células de defesa em sua diferenciação, outras nomenclaturas, função celular, tipo histológico com painel no SNC.

(continua)

MARCADOR	NOME ALTERNATIVO	CÉLULAS EXPRESSAS	FUNÇÃO
CD3		Linfócitos T	Ativação e sinalização
CD4		Linfócitos T auxiliares maduros	Ativação, diferenciação no timo e receptor para vírus HIV
CD8		Linfócitos T citotóxico maduro	Co-receptor para MHC I
CD16		NK, macrófagos e neutrófilos	Mediação da fagocitose
CD20	Antígeno superficial de leucócitos	Linfócitos B	Ativação e proliferação
CD25	Receptor de IL-2 subunidade alfa	Linfócitos B e T maduros	Ativação
CD27	Receptor TNF superfamília 7	Linfócitos B e T, e NK	Coestimulação e ativação

Tabela 4 – Marcadores imunológicos das células de defesa em sua diferenciação, outras nomenclaturas, função celular, tipo histológico com painel no SNC.

(conclusão)

MARCADOR	NOME ALTERNATIVO	CÉLULAS EXPRESSAS	FUNÇÃO
CD40	Receptor TNF superfamília 5	Macrófagos e linfócitos B	Coestimulação e diferenciação
CD45	Antígeno comum leucocitário	Células hematopoéticas (exceto hemácias e plaquetas)	Ativação
CD45RA		Monócitos, e linfócitos B e T naive	Ativação
CD45RB		Monócitos, macrófagos, NK, e linfócitos B e T	Ativação
CD45RC		Monócitos, macrófagos, NK, e linfócitos B e T	Ativação
CD45RO		Linfócitos T maduros e células de memória	Ativação
CD68	Macrosalina	Monócitos e macrófagos	Auxílio na fagocitose
CD206	MMR	Monócitos, e macrófagos recentes migrados e residentes	Ativação da endocitose
IBA1		Monócitos, e macrófagos recentes migrados e residentes	Citoesqueleto celular
EMR1	Análogo humano F4/80	Monócito, eosinófilos e macrófagos	Papel na imunidade adaptativa
TIPO CELULAR			PAINEL DE MARCAÇÃO
Linfócito T auxiliar CD4 ⁺			CD3+, CD4+, CD8-
Linfócito T citotóxico CD8 ⁺			CD3+, CD4-, CD8+
Célula T regulatória			CD3+, CD4+, CD25+
Linfócitos B			CD20, MHC II
Células <i>natural killer</i>			CD16
Células T <i>natural killer</i>			CD16, CD3
Linfócitos de memória (linfócitos B e T)			CD27, CD45RO

CD.: *cluster of differentiation*, EMR1.: receptor de hormônio semelhante a mucina-1, HIV.: vírus da imunodeficiência humana, IBA1.: molécula adaptadora de ligação de cálcio ionizado 1, MMR.: receptores manose de macrófagos, NK.: natural killer, , MHC.: complexo de imunocompatibilidade principal. SNC.: sistema nervoso central.

Fonte: próprio autor.

3 JUSTIFICATIVA

A hidrocefalia é um conjunto de alterações que culminam em aumento de coleção de líquido e consequente aumento volumétrico deste componente dentro da caixa craniana restrita, principalmente após o fechamento das fontanelas. O aumento da PIC é o evento comum e crítico da patologia, podendo ser um evento avassalador para a criança. Uma vez interposta a situação de hidrocefalia crônica, com dependência do *shunt*, ou hidrocefalia aguda com a presença de tumor cerebral, a hipertensão intracraniana agudizada pode ser fatal para estas crianças. A busca de novas informações acerca do papel de certas citocinas que repercutem no LCR e no plasma, além do conteúdo imunohistológico do tumor, é crucial para um novo entendimento da inflamação do SNC mediante o sofrimento cerebral. É entendido que os pacientes pediátricos crônicos de hidrocefalia e os agudos com presença do tumor no SNC já possuem condições de estresse e de potencial inflamação.

Através de comparações da expressão de determinadas citocinas no LCR, no plasma e no perfil imunológico do tecido tumoral de crianças com hidrocefalia em distintos estágios de injúrias neurológicas, pode-se inferir diferentes desfechos para tais situações. A averiguação de expressões diferentes de citocinas no sistema imune e a análise das células imunes do próprio tumor poderiam auxiliar no melhor entendimento da sua fisiopatogênese, principalmente após a comparação de situações semelhantes e distintas, como a comparação de pacientes saudáveis ou pacientes com hidrocefalia não-tumoral. Os estudos na população neuropediátrica são relativamente escassos na literatura mundial, pois é raro o acesso ao tecido cerebral das hidrocefalias não tumorais, e os tumores pediátricos são de linhagens embrionárias, de difícil acesso cirúrgico e com relativa resposta a outros tratamentos, como radioterapia e quimioterapia. Esta associação do presente estudo é inédita, são poucos os estudos que tentam comparar a resposta das citocinas em modelos tumorais, não tumorais e em pacientes saudáveis pediátricos. A infiltração de células inflamatórias dos tumores cerebrais benignos e malignos tem fenótipos diferentes e são estimadas respostas diferentes. A partir destas descobertas, haveria a possibilidade de sugerir mecanismos imunes nas patologias de hidrocefalia tumoral e não-tumoral com associação de sofrimento cerebral, de auxiliar no prognóstico destes pacientes, e de almejar novas abordagens terapêuticas para estas crianças, como a imunoterapia.

4 PERGUNTAS DE PARTIDA

- Existem diferenças nas expressões de citocinas em amostras de LCR de pacientes pediátricos com hidrocefalia tumoral (benigna ou maligna) e com hidrocefalia não-tumoral sob condições de HIC quando comparados a amostras de crianças saudáveis (grupo controle)?
- Há diferenças nas expressões de citocinas em amostras de plasma de pacientes pediátricos com hidrocefalia tumoral (benigna ou maligna) e com hidrocefalia não-tumoral sob condições de HIC quando comparados a amostras de crianças saudáveis (grupo controle)?
- Diferentes características dos infiltrados de células imunes de tumores benignos ou malignos apresentam expressões de citocinas distintas?
- As análises histológicas, enfatizando ativação pró ou anti-inflamatórias dos macrófagos/micróglias, poderiam resultar em respostas concordantes para o resto do organismo?
- Os resultados obtidos, com este estudo, viabilizam novo entendimento para a fisiopatologia da hidrocefalia tumoral ou não-tumoral no estresse de HIC?

5 HIPÓTESES

- Sabe-se que há diferenças de respostas imunes entre o paciente pediátrico com acometimento de hidrocefalia tumoral (benigna e maligna) e não-tumoral em situação de HIC. Neste ponto, hipotetizamos que há diferenças nas expressões de citocinas do LCR e do plasma influenciadas pela inflamação ocorrida dependendo da etiologia, sendo possível avaliar o perfil de resposta imune, decorrente da resposta ao estresse;
- Há uma resposta ao estresse agudo diferencial em crianças com hidrocefalia tumoral benigna e maligna e com hidrocefalia não-tumoral com características clínicas e laboratoriais distintas, para tal intento, é necessário avaliar as respostas pelas citocinas do LCR e plasma e verificar o perfil de linfócitos e macrófagos/micróglias infiltrando os tumores cerebrais e hipotetizar a resposta padrão da hidrocefalia não-tumoral;
- Tipos histológicos distintos de tumores cerebrais, dependendo da polarização dos macrófagos/micróglias, podem conceber respostas imunológicas distintas, variando a progressão e o prognóstico tumoral nos pacientes pediátricos.

6 OBJETIVOS

6.1 Objetivo Geral

- Investigar os aspectos imuno-inflamatórios da hidrocefalia tumoral (benigno e maligno) e não-tumoral em crianças submetidas a *shunt* ventricular por hipertensão intracraniana assistidas em um hospital terciário pediátrico da cidade de Fortaleza - CE.

6.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar os aspectos clínico-laboratoriais dos pacientes pediátricos com hidrocefalia tumoral (benigna e maligna) e não-tumoral, e seu *follow up*;
- Caracterizar a expressão de citocinas de amostras de líquido e de plasma de pacientes pediátricos com hidrocefalia tumoral (benigna e maligna) e não-tumoral, e de crianças saudáveis (grupo controle);
- Correlacionar os achados clínicos e laboratoriais com os achados de citocinas do líquido e do plasma, e aspectos histológicos entre os pacientes pediátricos com hidrocefalia tumoral (benigna e maligna) e não-tumoral (modelo teórico);
- Caracterizar e correlacionar a expressão de marcadores imuno-inflamatórios e funcionais de tumores cerebrais por imuno-histoquímica nos pacientes pediátricos segundo sua agressividade;
- Caracterizar e correlacionar a expressão e polarização dos macrófagos/micróglias das biopsias tumorais por imunofluorescência segundo sua agressividade.

7 METODOLOGIA PROPOSTA

7.1 Delineamento do estudo, recrutamento dos pacientes e aspectos éticos

Em um estudo do tipo observacional e prospectivo, com seleção dos grupos de pacientes por características clínicas e cirúrgicas, avaliou-se um total de 185 e analisaram-se 40 pacientes pediátricos assistidos na unidade de cirurgia pediátrica do Hospital Infantil Albert Sabin - HIAS, localizado na cidade de Fortaleza - CE, no período de 2017 a 2021.

Como critérios de inclusão dos pacientes do **grupo hidrocefalia tumoral**, foram recrutadas crianças, de 0 a 18 anos, de ambos os gêneros, com diagnóstico confirmado de hidrocefalia tumoral. Primeiramente submetidas a procedimento cirúrgico de Derivação Ventricular Peritoneal (DVP) e sem diagnóstico prévio de infecção do sistema nervoso central; e em seguida, submetidas à cirurgia de ressecção tumoral. Para o grupo de **hidrocefalia não-tumoral**, pacientes crônicos com hidrocefalia, que necessitaram de colocação ou desobstrução de *shunt* ventricular com características clínicas, semelhantes às do grupo hidrocefalia tumoral. Como critérios de inclusão dos indivíduos, para o **grupo controle**, foram recrutados crianças, de 0 a 18 anos; de ambos os gêneros com semelhanças sociodemográficas aos grupos anteriores, sem associação a comorbidades, tais como: doença neurológica, cardiovascular, pulmonar, renal ou hepática e que foram submetidos de intervenção cirúrgica eletiva (tais como: cirurgia de ortopédicas de membros inferiores, cirurgia de herniorrafias ou urológicas) sob raquianestesia associada à anestesia geral.

Como critérios de exclusão, não foram recrutados pacientes com diagnóstico confirmado de hidrocefalia pediátricos de 0 a 18 anos com associação à infecção do sistema nervoso central e com comorbidades graves.

Após a aprovação do comitê de ética local, todos os pacientes que foram inclusos no estudo obtiveram a aprovação e o preenchimento do termo de consentimento livre e esclarecido pelo seu responsável direto. Os pacientes com idade acima de 6 anos, com capacidade de entendimento, também tiveram a autorização e a assinatura de termo de assentimento livre e esclarecido (APÊNDICE A). Durante o recrutamento e a alocação dos grupos controle, houve panfletos e palestras informativas nas enfermarias pré-operatórias pedindo inclusão destes pacientes e das suas famílias para o projeto, e os pesquisadores também perguntaram aos responsáveis dos pacientes se queriam participar da pesquisa. Durante o recrutamento dos pacientes neurocirúrgicos, estes pacientes tiveram suas abordagens em várias situações: na enfermaria da neurologia, nos ambulatórios de neurologia ou neurocirurgia, na

emergência do HIAS, no preparo pré-operatório do centro cirúrgico do HIAS. Para estas situações, os pesquisadores se valeram de panfletos e palestras informativas nestes locais, convidando os pacientes e os familiares para participar da pesquisa, respeitando todos os preceitos éticos e respondendo quaisquer dúvidas dos participantes, dando o tempo necessário para refletir e optando ou não de participar da pesquisa.

A presente pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética em pesquisa com seres humanos do Hospital Infantil Albert Sabin (número do parecer aprovado: 2.314.838), através do sistema da Plataforma Brasil, APÊNDICE B.

Nestes termos, a equipe executora desta pesquisa comprometeu-se a cumprir todas as diretrizes e normas reguladoras descritas na Resolução nº 466 de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde que aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos.

7.2 Seleção dos pacientes

No período de coleta de dados, dos 185 pacientes arrolados na pesquisa apenas 28 pacientes do grupo hidrocefalia tumoral e do grupo não-tumoral concluíram os critérios de inclusão e exclusão. Primeiramente, os pacientes com hidrocefalia tumoral tinham indicação clínica e de imagens de colocação de derivação ventricular de urgência por sinais e sintomas sugestivos de hipertensão intracraniana. Estes pacientes foram atendidos na emergência do hospital, e tiveram o primeiro diagnóstico de tumor cerebral e hidrocefalia com dilatação de ventrículos. Entre a indicação de *shunt* ventricular e realização da cirurgia, os pacientes tiveram medidas clínicas de suporte e alívio de HIC, neste momento foram selecionadas para pesquisa. No momento da realização da punção ventricular para alívio de hipertensão intracraniana, obtiveram-se amostras de sangue e líquido sem sinais de contaminação de sangue ou infecção. Posteriormente, estes pacientes tiveram biopsias ou exérese dos tumores. E suas amostras de tumores eram elegíveis para confecção de bloco de parafina. Durante a avaliação tumoral, seguindo o protocolo de *World Health Organization* (WHO) de 2007 sobre a classificação de tumores cerebrais pediátricos, subdividiu-se em subgrupos benignos e malignos. Assim, obteve-se o subgrupo hidrocefalia tumoral benigno e maligno. A partir do grupo hidrocefalia tumoral, selecionou-se o grupo hidrocefalia não-tumoral por características sociodemográficas, clínicas e de imagens. Os pacientes do grupo não-tumoral eram crianças com diagnóstico crônico de hidrocefalia que tiveram indicação por sinais clínicos e de imagens de HIC para colocação ou revisão de derivação ventricular. No momento do *shunt*, foram coletadas amostras

de líquido e plasma. Também se selecionaram do grupo controle total de 46 pacientes saudáveis, apenas 12 pacientes tiveram com as características semelhantes aos grupos hidrocefalias, citadas anteriormente.

Os pacientes tumorais que tiveram coletadas as amostras de sangue e líquido, porém sem possibilidade de neurocirurgia para ressecção ou biópsia cerebral, não prosseguiram na análise de dados, mesmo quando ocorreu quebra de protocolos de obtenção de dados, de amostras e de outras etapas em todos os grupos. Estas amostras elegíveis ficaram estocadas no freezer -80° C para posteriores análises.

7.3 Obtenção das amostras clínicas

Do total de pacientes (grupos Hidrocefalias e grupo Controle), foram obtidas amostras de líquido e sangue.

Para a coleta de amostras de líquido do grupo Hidrocefalia, no momento do procedimento cirúrgico, de DVP, sob anestesia geral, foi realizada a punção do ventrículo cerebral com a obtenção de uma amostra de líquido em um volume de 2 mL. A aferição da pressão intracraniana foi obtida através de coluna de líquido e ar atmosférico formado por cateter de derivação em posição vertical, uma régua milimétrica regulada o ponto zero na altura do pavilhão auricular do paciente aferia em centímetros de líquido a pressão intracraniana no momento da punção ventricular. Durante a coleta de amostras de líquido do grupo Controle, no momento da raquianestesia, sob anestesia geral, foi realizada a punção lombar obtendo-se uma amostra de líquido em um volume de 2 mL. As amostras de líquido visivelmente fora da coloração padrão, que é líquido fluido transparente, que foram descartadas para seguir no protocolo. Todos os procedimentos foram realizados por médicos (neurocirurgião ou anestesista) experientes do serviço de cirurgia do Hospital Infantil Albert Sabin.

As amostras de líquido foram processadas para verificação de qualidade (contaminação sanguínea, concentração de células e contaminação por fungos e bactérias). Uma alíquota de 20µl de cada amostra obtida foi analisada quanto à celularidade global em microscopia ótica (40x), através de contagem na câmara de *Fuchs-Rosenthal*. Nesta análise, foi possível também verificar a concentração de hemácias, sendo considerada contaminação sanguínea e contagem celular acima de 500 células/mm³. Outra alíquota de 400µl foi utilizada para contagem diferencial, montada em lâmina centrifugada seguida de colorações de *Giensa* e *Gram*, para exclusão de infecções por fungos ou bactérias e realização do diagnóstico diferencial. O outro montante de líquido (1,5mL) foi centrifugado a 3000 x G por 15 minutos

(Centrifuga *Eppendorf* 5810 R, Eppendorf, Hamburg, Alemanha) e então o sobrenadante foi transferido para microtubos (*Eppendorf*). Os pacientes que tiveram amostras contaminadas de líquido foram excluídos do estudo. O líquido centrifugado que entrou nos critérios foi armazenado em freezer -80°C para as análises.

A coleta de amostras de sangue, para os grupos, foi realizada por punções venosas, após a anestesia geral, de amostras com volume de 4 mL, preservada em tubo de Sangue Total/Plasma (*Vacutainer*®) contendo EDTA a vácuo de acordo com as recomendações adotadas pela *Clinicaland Laboratory Standards Institute - CLSI* (Peloso, 2015) e da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Medicina Laboratorial. Todos os procedimentos foram realizados por profissional técnico experiente do serviço de cirurgia do Hospital Infantil Albert Sabin.

As amostras foram centrifugadas a 3000 x G por 15 minutos (Centrifuga *Eppendorf* 5810 R, Eppendorf, Hamburg, Alemanha) e então o sobrenadante, o plasma, foi transferido para microtubos (*Eppendorf*). As amostras de plasma com sinais de coagulação ou hemólise não progrediram para análise. O plasma elegível foi armazenado em freezer -80°C para as análises.

7.4 Variáveis clínicas, laboratoriais, imagens e biopsia tumoral

Os pacientes tiveram seus dados clínicos, laboratoriais e de imagens anotados na ficha de avaliação, no APÊNDICE C.

Os principais dados demográficos, como iniciais, nome do responsável, número de prontuário, data de admissão, peso e idade foram verificados. Os pacientes foram avaliados quanto ao tipo de cirurgia a ser realizada, número de cirurgias anteriores e principais complicações. As causas de hidrocefalia foram analisadas quanto ao tipo de hidrocefalia, tais como: obstrução (comunicante ou não comunicante), idade do início da patologia (infantil), fator precipitante (tumoral), sendo selecionados os pacientes sem infecção do SNC.

Os pacientes foram avaliados quanto à gravidade. Na patologia atual, os pontos de interesse foram o estado clínico, avaliados pela escala de *Glasgow*, segundo faixa etária, pela escala *Pediatric Cerebral Performance Category* (PCPC), perímetro cefálico, presença de abaulamento de fontanela, e PIC, vistos no ANEXO A. A presença de uso atual de antibióticos sistêmicos, anticonvulsivantes e outras importantes medicações foram utilizadas e anotadas.

Os dados laboratoriais de interesse foram: para o sangue - hemograma recente, valor de proteína C reativa (PCR), eletrólitos, hemoculturas negativas, teste de função renal e hepática; para o líquido - eletrólitos, culturas, concentração de proteínas e celularidade.

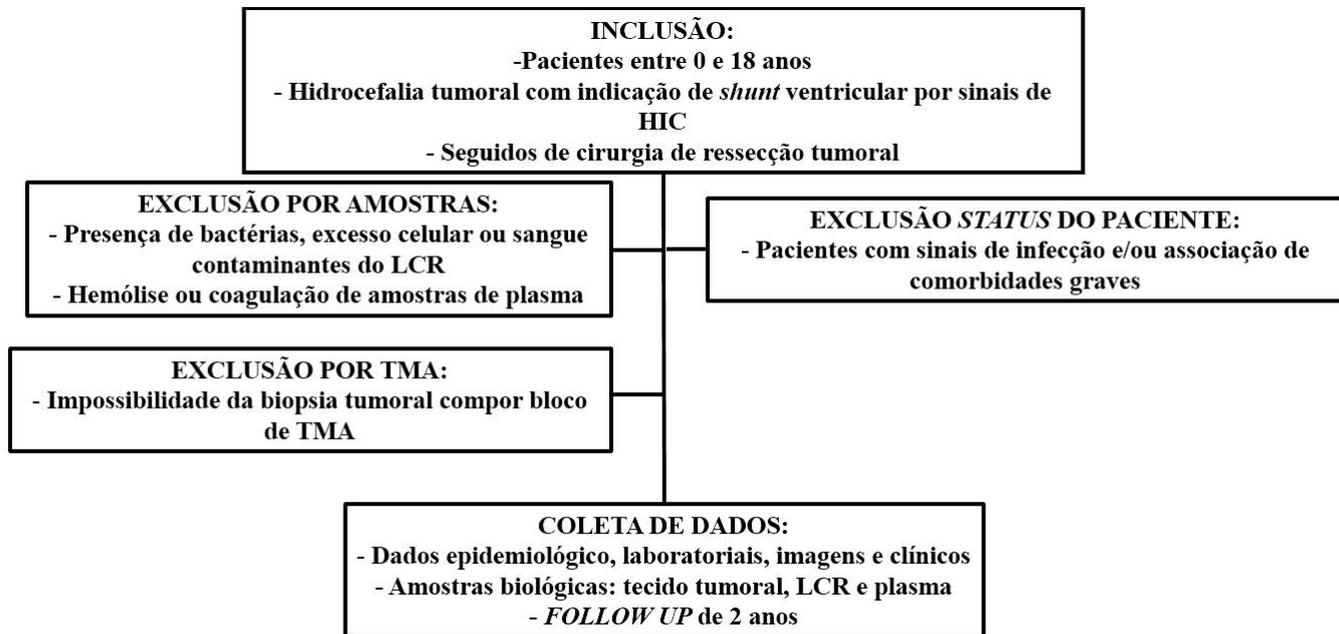
Os pacientes com neuroimagens como ultrassonografia (pacientes com fontanelas ainda abertas), tomografia computadorizada e ressonância nuclear magnética foram registradas e analisadas. Foi observada a etiologia da hidrocefalia, localização de DVP anterior, sinais sugestivos de hipertensão intracraniana, presença de cistos cerebrais, leucomalácia, infartos ou má-formações, alterações meníngeas e tumores intracerebrais. Quando possível, em hidrocefalias simétricas, os pacientes foram classificados quanto ao índice de *Evans* (relação da medida das imagens entre o tamanho da maior distância interventricular lateral frontal e maior distância de margem cerebral externa) (Sarı, Sarı *et al.*, 2015).

No período pós-operatório, os pacientes foram avaliados diariamente, sendo registrado o tempo de recuperação clínica, e observados nas escalas de Glasgow e *PCPC*, além dos exames laboratoriais, quando realizados, a fim de definir um quadro de melhora clínica do paciente, assim anotado em dias o tempo necessário até o início de platô de estabilidade clínica. Alterações como presença de infecção do SNC no pós-operatório imediato (primeiras 48 horas), sangramentos ventriculares seriam motivos de exclusão de pacientes.

Selecionaram-se pacientes acometidos de hidrocefalia tumorais que foram coletados líquido e sangue motivados por hipertensão intracraniana, nestes pacientes posteriormente foi realizada biópsia ou ressecção tumoral, anotou-se o tempo decorrido entre a derivação e cirurgia de ressecção ou biópsia tumoral. No laudo histopatológico, seguiu-se o protocolo do *World Health Organization* de 2007 pelo serviço de patologia da instituição (Louis, Perry *et al.*, 2016). Posteriormente, foi confeccionado bloco de *Tissue Microarray* destes pacientes. Os pacientes selecionados acometidos de tumores cerebrais e hidrocefalia não-tumoral foram seguidos retrospectivamente por um período de 48 meses através de análise de prontuários. Foram anotadas as principais intercorrências, como o tratamento tumoral realizado e intervenções cirúrgicas instituídas, e tentou-se realizar a curva de sobrevivência e anotaram-se os principais desfechos destes pacientes. Foram observados números de cirurgias realizadas, intervenções realizadas como quimioterapia e radioterapia, eventos posteriores às coletas biológicas.

Na figura 5, observa-se o desenho de estudo do grupo de hidrocefalia tumoral com os critérios de inclusão e exclusão dos pacientes, além dos critérios de exclusão pelos critérios de exclusão da qualidade de coleta das amostras biológicas como LCR, plasma e tecido de biópsia tumoral.

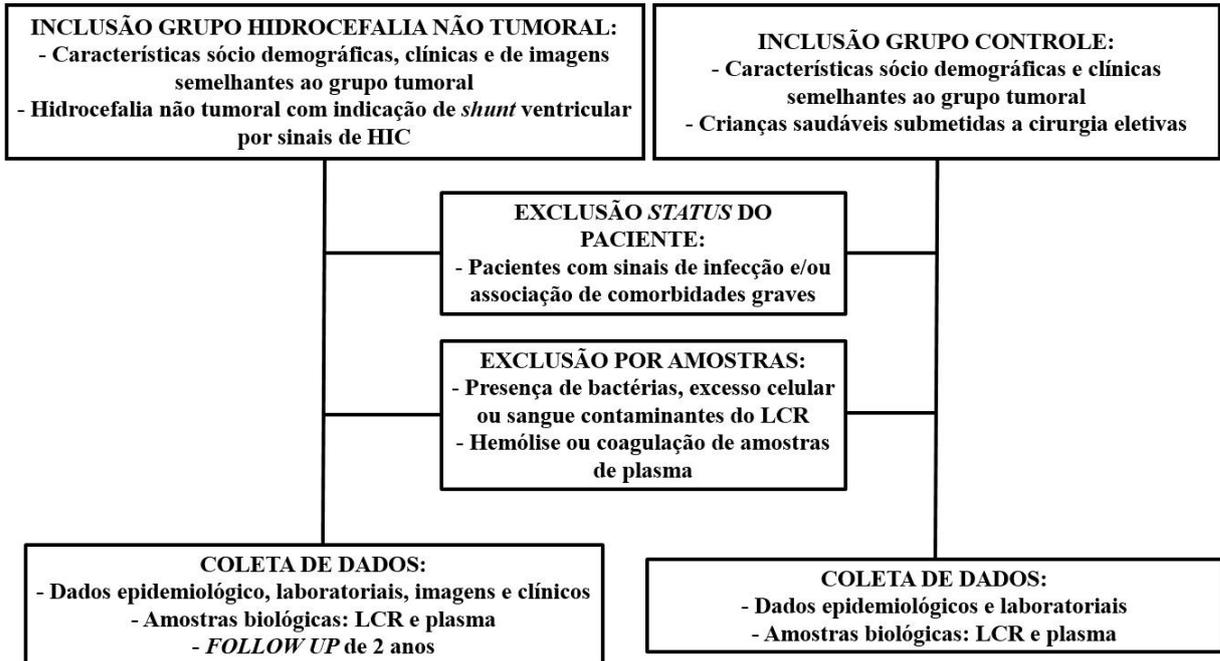
Figura 5 – Desenho de estudo do grupo hidrocefalia tumoral, com critérios clínicos, laboratoriais, qualidade de biopsia tumoral e composição de TMA do presente estudo.



HIC: hipertensão intracraniana. LCR: líquido cefalorraquidiano. TMA: *tissue microarray*.
Fonte: próprio autor.

E na figura 6, observa-se o desenho de estudo com os critérios de inclusão e exclusão para os outros grupos não tumorais e controle baseado nas características do grupo tumoral. No decorrer da coleta de dados, os grupos foram coletados em concomitância, apenas após a montagem dos pacientes tumorais, foram montados os outros dois grupos, e estes se encontravam no *pool* dos pacientes dos seus respectivos grupos.

Figura 6 – Desenho de estudo de pacientes de hidrocefalia não-tumoral e pacientes controles com os critérios de inclusão e exclusão.



HIC: hipertensão intracraniana. LCR: líquido cefalorraquidiano.

Fonte: próprio autor.

7.5 Ensaio de imunoabsorvência ligado à enzima (ELISA) para citocinas

Amostras de plasma e líquido dos pacientes foram coletadas no transoperatório. Após centrifugação, amostras do plasma e líquido foram armazenadas a -80°C para posteriores dosagens de IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33. As citocinas (IL-6 e IL-33) foram dosadas no plasma dos indivíduos através do método de ELISA sanduíche, utilizando-se kits DuoSet ELISA (R&D Systems[®]) e seguindo-se as orientações do fabricante. Foram utilizadas placas de poliestireno com 96 poços, as quais foram sensibilizadas overnight a 4°C com anticorpo de captura monoclonal anti-IL-6 e anti-IL-33, diluído em PBS (*Phosphate – Buffered saline*). Após esse período, os poços foram lavados 3 vezes com $400\mu\text{L}$ do tampão de lavagem e secos vertendo em papel absorvente. Posteriormente, foi realizado o bloqueio da placa através da adição de $300\mu\text{L}$, em cada poço, de diluente de ensaio, seguido de incubação à temperatura ambiente por 1 hora. A seguir, a placa foi lavada conforme descrito anteriormente. Foram adicionados aos diferentes poços da placa $100\mu\text{L}$ de cada concentração do padrão, do plasma dos pacientes e grupo controle, cobertos por fita adesiva e incubados por 2h à temperatura ambiente. Após este período, foram realizadas 3 lavagens e em seguida adicionados $100\mu\text{L}$ da diluição de trabalho da Streptavidin-HRP. A placa foi selada e incubada por 20 min em uma sala escura e à temperatura ambiente. Posteriormente, a placa foi novamente aspirada e lavada por 3 vezes.

Em seguida, foram adicionados 100 µL do substrato enzimático, constituído por soluções estabilizadoras de peróxido de hidrogênio e de tetrametilbenzidina (TMB). A placa foi incubada no escuro à temperatura ambiente por 20 min e, então, adicionou-se 50 µL de solução de parada a cada poço. A leitura da placa foi realizada em leitor de ELISA utilizando o filtro de comprimento de onda de 450 nm e o resultado expresso em pg/mL.

Já para as citocinas IL-10 e IL-18, foram utilizados os kits ELISA Invitrogen (Thermo Fisher®) com placas de 96 poços pré-incubados com anticorpos. Segundo instruções da fabricante, o plasma foi diluído em proporção de 1:5 e o líquido não necessitou da diluição. O processo de pré-incubação não foi necessário. Foram adicionados aos diferentes poços da placa 100 µL de cada concentração do padrão, do plasma dos pacientes e grupo controle, cobertos por fita adesiva e incubados por 1h à temperatura ambiente. Foram realizadas três lavagens dos poços. Após o procedimento de lavagem e escoamento, foi colocado 100 µL de reagente conjugado (IL-10 ou IL-18) e incubado por 1 hora em temperatura ambiente. Houve processo de lavagem, repetido por três vezes. Foi colocado em cada poço 100 µL de reagente de substrato (TMB/H₂O₂) em temperatura ambiente e incubado por 30 min. Neste tempo foi observada a mudança de coloração dos poços para a cor azul. A solução de parada foi adicionada, 100 µL de 0,5 mol/L H₂SO₄. A coloração da solução resultante foi de azul para amarelo. A mensuração das placas foi semelhante àquelas descritas anteriormente.

7.6 Análises histológicas

7.6.1 Técnica do Tissue Microarray (TMA)

Após a seleção dos pacientes, um patologista experiente escolheu, de forma independente, as áreas das biópsias excisionais com microambiente tumoral adequado para a investigação imuno-histoquímica e imunofluorescência. Uma área intratumoral da peça cirúrgica foi utilizada para retirada dos fragmentos e confecção do bloco de TMA.

Para técnica de TMA, uma agulha oca (Quick - Ray UNITMA®) fora utilizada para remover pequenos fragmentos de tecidos, de até 3 milímetros de diâmetro, de regiões em interesse de blocos parafinados. Estes fragmentos foram então inseridos em um bloco receptor de parafina, em um padrão de matriz precisamente espaçada. Foi confeccionado bloco de parafina para 50 unidades de amostras para tumores e tecidos de controle interno (tonsila e fígado). Secções deste bloco foram feitas com um micrótomo para coloração por hematoxilina-eosina e técnicas de imuno-histoquímica e imunofluorescência. Cada bloco de *microarray* foi

cortado em seções e submetido a testes independentes. O bloco receptor foi submetido a cortes, em uma mesma sessão, sequenciais de 5 µm de espessura que foram depositados em lâminas de vidro silanizadas. O bloco receptor é considerado esgotado quando mais de 20% das amostras não estiverem presentes. (Andrade, Cunha *et al.*, 2007)

7.6.2 Hematoxilina e eosina

As amostras incluídas em parafina foram cortadas em micrótomo para obter cortes histológicos de 5µm de espessura. As lâminas contendo os cortes foram adequadamente processadas, coradas em hematoxilina e eosina (HE) e montadas com lamínulas.

Posteriormente, com o auxílio de um microscópio óptico utilizando lentes objetivas de aumento de 40 vezes, acopladas ao sistema de aquisição de imagens (marca LEICA®), as lâminas foram avaliadas por um médico patologista, experiente, a fim de avaliar a sua morfologia caracterizando o processo de migração inflamatória, além de contagem celular global.

7.6.3 Imuno-histoquímica

Para avaliar a localização de marcadores de macrófagos/micróglia foram utilizados imunomarcadores (CD4, CD8, CD20, CD45, CD45RO, CD68 e GFAP) para as biópsias emblocadas em parafinas dos tumores cerebrais. Na etapa seguinte, as lâminas contendo as biópsias foram submetidas à desparafinização: inseridas em estufa a 60°C overnight e três banhos em xilol por cinco minutos cada. Em seguida, as lâminas foram hidratadas com dois banhos de etanol absoluto, um banho em etanol a 90%, um banho em etanol a 80% e um banho em etanol a 70%, por três minutos cada. Ao final dessa etapa, os cortes de biópsias de tumores foram submersos a um banho de água destilada por 10 minutos e foi realizada a recuperação antigênica com tampão citrato (DAKO®, pH 7,0) por 20 min em banho Maria (95°C). Em seguida, os tecidos foram lavados com tampão fosfato-salino (PBS) por 5 minutos. Na etapa seguinte, realizou-se o bloqueio da peroxidase com peróxido de hidrogênio a 3% (ABCAM®) por 30 minutos. Decorrido este tempo, as lâminas foram lavadas com PBS e foram incubadas com os anticorpos primários para os marcadores por 1h em temperatura ambiente. Para confecção dos controles negativos, os anticorpos primários foram omitidos. Após este período, os cortes foram lavados três vezes com PBS e incubados com polímero por 30 min. Em seguida, as lâminas foram lavadas três vezes com PBS durante três minutos cada, secado e aplicado o

DAB (DAKO®, 3,3'- diaminobenzidinatetrahydroclorato). DAB é um cromógeno que reage com a peroxidase do antígeno alvo resultando em coloração marrom. Dessa forma, foram observadas as lâminas até aparecer uma coloração marrom na microscopia, após este evento a reação foi parada imediatamente mergulhando-as em água destilada no máximo de 30 minutos. Enfim, as lâminas foram contra coradas com hematoxilina de *Mayer* e processadas para inserir a lamínula. (Brooks, 2012)

As imagens da imuno-histoquímica foram capturadas por meio de um microscópio de luz acoplado a uma câmera com sistema de aquisição LAZ 3,5 (LEICA® DM1000, Alemanha). Para quantificar a área imunomarcada, em cada marcador, foi utilizado o programa imageJ® para obter a área total do tecido e a área imunomarcada. Em seguida, para mensurar a porcentagem (%) de área marcada, efetuou-se o seguinte cálculo:

$$\% \text{ da área imunomarcada} = \frac{\text{Área imunomarcada (pixels)} \times 100}{\text{Área total (pixels)}}$$

Para realizar a análise semiquantitativa utilizaram-se duas metodologias: quantificação de células marcadas e categorização de intensidade de coloração. Foi quantificada, por meio de escores, a porcentagem de células marcadas em proporção de células totais da lâmina analisada (aumento na objetiva 40 vezes ou 100 µm) que vão de 0 a 4. Foram utilizados os seguintes escores: 0- ausência de marcação; 1- menos de 10% de células coradas; 2-entre 10% e 30% de células coradas; 3- entre 31% e 60% de células coradas; e 4- mais de 60% de células coradas. E, pela categoria de intensidade de coloração, utilizou-se: 0 = ausência (-); 1 = coloração fraca (+); 2 = coloração moderada (++); 3 = coloração forte (+++).

7.6.4 Imunofluorescência

Para avaliar a localização de marcadores de macrófagos/micróglia foi utilizada imunofluorescência para imunomarcadores (IBA1, CD40, CD206 e DAPI) das biópsias emblocadas em parafinas dos pacientes. Na etapa seguinte, as lâminas contendo as biópsias foram submetidas à desparafinização: inseridas em estufa a 60°C *overnight* e três banhos em xilol por cinco minutos cada. Em seguida, as lâminas foram hidratadas com um banho de etanol absoluto, um banho em etanol a 90%, ambos por 10min, e um banho em etanol a 70% e outro banho em etanol a 50%, por cinco minutos cada. Ao final dessa etapa, as lâminas de biópsias de tumores foram lavadas com água corrente por 10 minutos e receberam três imersões em PBS a cada 5 min. Em seguida, foi feita a recuperação antigênica com aquecimento, através de banho de imersão sob temperatura de 90° C em tampão citrato de sódio 0,1 M (pH 6,0) por 18min e processo de resfriamento, obtido em temperatura ambiente, por 40 minutos. Depois, foi feita a

permeabilização de membrana, utilizando 4 μ L de triton X-100 0,1% (Sigma-Aldrich[®], St. Louis, MO, EUA), 200 μ L de PBS, e 4ml de albumina sérica bovina (BSA) 5% (Sigma-Aldrich[®], St. Louis, MO, EUA), para as lâminas a serem analisadas, e novamente três imersões em PBS a cada 5 min. Para o bloqueio de ligações inespecíficas, foi utilizada glicina 0,3 M (Sigma-Aldrich[®], St. Louis, MO, EUA) em BSA 5% durante 30 minutos para todas as lâminas. As lâminas foram lavadas com PBS e incubadas, durante a noite, à temperatura de 4°C, com o anticorpo primário feito em dupla marcação para polarização M1: anticorpo policlonal IBA1 *rabb* (MNK 4428, Wako Pure Chemicals[®], Neuss, Germany) (1:400) + anticorpo monoclonal CD40 *mouse* (Sigma-Aldrich[®], St. Louis, MO, EUA) (1:500); ou para polarização M2: IBA1 *rabb* + CD206 *mouse* (Monoclonal Anti-MRC1, Sigma-Aldrich[®], St. Louis, MO, EUA) (1:500). Posteriormente, foi realizada a incubação com o anticorpo secundário anti-igG de coelho/*rabb* Alexa Fluor488 (Invitrogen[®], Life Technologies, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA), na diluição de 1: 400, durante 1 hora e 30 minutos. E o mesmo processo de incubação com o anticorpo secundário anti-igG de camundongo/*mouse* Alexa Fluor633 (Invitrogen[®], Life Technologies, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA), na diluição de 1: 400. Com a finalidade de marcar os núcleos celulares, as seções dos tecidos foram incubadas, durante 30 minutos, com 4', 6-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride (DAPI) (4 μ L em 200 mL de PBS), este marcador é montado com uma fluorescência específica (Fluoromount, Sigma-Aldrich[®], MO, USA). Para montagem das lâminas, foi utilizado o meio Prolong Gold Antifade Mountant (Invitrogen[®], Life Technologies, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). Para a aquisição das fotomicrografias, foi utilizado um microscópio confocal de varredura a laser com aumento na objetiva 40 vezes ou 100 μ m (Zeiss LSM 710, Carl Zeiss[®], Jena, Alemanha).

A quantificação da área marcada nas fotos foi feita diferenciando as áreas marcadas (pixels) pela maior saturação de cor associada à marcação (vermelha ou verde). Para isso, foi utilizado o programa Fiji Image J[®]. O procedimento é baseado na saturação da cor associada à marcação positiva para um determinado marcador. Os limites necessários para definição de pixels marcados e não marcados foram definidos previamente. Para a quantificação da área marcada foram utilizados controles internos (tonsila e fígado). Os resultados dessa quantificação foram apresentados em porcentagem, a qual foi calculada a marcação positiva de um determinado marcador em relação à área total da foto, que foi considerada 100%. Após os marcadores quantificados, os cortes de tumores foram comparados ao modo de co-marcação ("*merge*") entre o perfil de marcação M1 e M2.

Na tabela 5, observa-se o resumo de pesquisa celular através de marcadores nos tumores estudados, incluindo os estudos de imuno-histoquímica e imunofluorescência.

Tabela 5 – Painel histológico de marcadores do estudo dos tumores do SNC.

TIPO CELULAR	PAINEL
Linfócito T auxiliar	CD4
Linfócito T citotóxico	CD8
Linfócitos B	CD20
Células leucocitárias	CD45
Células memória	CD45RO
Células da glia	GFAP
Macrófagos	CD68
Macrófagos M1	IBA1, CD40
Macrófagos M2	IBA1, CD206

CD: *cluster of differentiation*, GFAP: proteína ácida fibrilar da glia, IBA1.: molécula adaptadora de ligação de cálcio ionizado 1, SNC.: sistema nervoso central.

Fonte: próprio autor.

7.7 Análises estatísticas

O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar se os dados de cada variável analisada apresentavam-se com distribuição normal (dados paramétricos) ou não (não paramétricos). Os valores de *outliers* foram retirados (quando ocorreram) por não representarem aqueles resultados os quais o estudo tinha o objetivo de generalizar (p-valor >0.05 para o teste de Shapiro-Wilk).

Os dados paramétricos foram analisados através do teste *t* de Student, para a comparação da média entre dois grupos, e do teste de ANOVA *one-way*, para a comparação das médias em variáveis com mais de dois grupos. O pós-teste (*post-hoc*) para a ANOVA *one-way* foi definido a partir da análise da homogeneidade de variâncias através do teste de Levene. Caso houvesse homogeneidade de variâncias (p-valor $\geq 0,05$), foi definido como pós-teste para a ANOVA *one-way* o teste de Tukey. Caso não houvesse homogeneidade de variâncias entre os dados (p-valor <0,05), foi definido como pós-teste para a ANOVA *one-way* o teste de *Games-Howell*.

Os dados não paramétricos foram analisados pelo teste de *Mann-Whitney*, para a comparação da média entre dois grupos, e pelo teste de *Kruskal Wallis*, seguido do pós-teste (*post-hoc*) de *Dunn's*, quando houver. Os teste pareados foram analisados pelo teste de *Wilcoxon*.

As diferenças entre as frequências dos casos estratificados por cada variável clínico e sociodemográfica avaliada, frente ao gênero do paciente com hidrocefalia foram avaliadas pelo teste de Qui-quadrado de *Pearson* ou Exato de *Fisher*. A razão de chances (*Odds ratios* - OR), seguida do intervalo de confiança (95%), foi calculada pela análise de Regressão Logística Multinomial. E as correlações foram avaliadas por teste de *Spearman*.

As medições foram expressas em média, seguidas de porcentagem, valores de máximo e mínimo ou desvio padrão (\pm DP). O nível de significância estatística utilizado será de $p < 0,05$ e todas as análises serão efetuadas com recurso do *software* SPSS para Windows (versão 20.0).

8 RESULTADOS

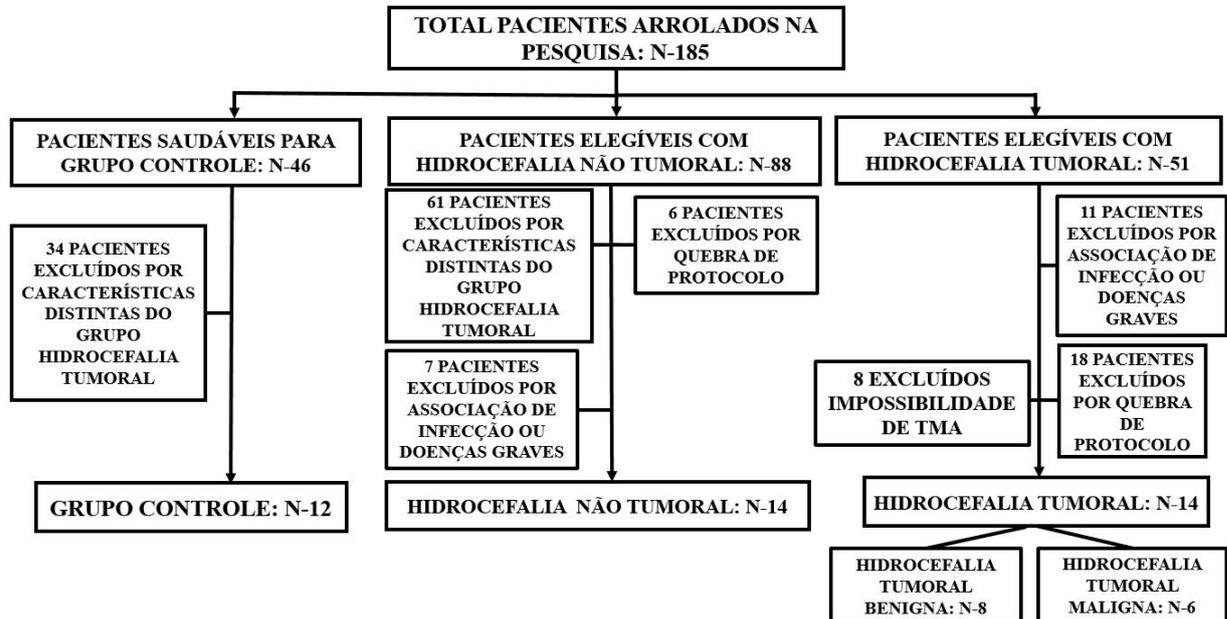
8.1 Caracterização dos pacientes com hidrocefalia tumoral benigna e maligna

Dos 185 pacientes envolvidos na pesquisa, foram excluídos 145 pacientes, por motivos de quebra de protocolos clínicos e laboratoriais, por qualidade imprópria de amostras, por impossibilidade de confecção de bloco de TMA e por não semelhança com o grupo hidrocefalia tumoral. Na figura 7, é demonstrado o fluxograma dos pacientes analisados na pesquisa. O número amostral deste estudo (n) foi igual a 14 pacientes pediátricos diagnosticados com hidrocefalia tumoral estratificados em dois distintos grupos: o grupo de pacientes com diagnóstico benigno, compreendido pelos casos de astrocitoma pilocítico grau I (n=3), ependimoma grau II (n=2), papiloma de plexo coroide (n=1), neurocitoma central grau I (n=1), e craniofaringioma adamantinomatoso (n=1); e o grupo de pacientes com diagnóstico maligno, compreendido pelos casos de meduloblastoma grau IV (n=4), glioblastoma grau IV (n=1) e pinealoblastoma (n=1).

Em relação aos pacientes com hidrocefalia não-tumoral, foram 14 pacientes pediátricos, destacaram-se 4 casos de pacientes com hidrocefalia pós-meningite, 2 casos associados à mielomeningocele, 1 caso de paciente com Síndrome de Dandy-Walker e 7 casos com diagnóstico não definido, observados no APÊNDICE D.

Além dos pacientes com hidrocefalia, foi incluído um total de 12 casos de pacientes pediátricos hígidos não associados à hidrocefalia como grupo controle. Os últimos não possuíam patologias com associação neurológica, renal, infecciosa, cardiopulmonar; excetuando a patologia estrutural que necessitou ser submetido à cirurgia com anestesia raquidiana. As cirurgias realizadas nos pacientes do grupo controle foram: herniorrafia, correção de fimose, confecção ou fechamento de colostomia e cirurgia ortopédica. E na comparação de dados demográficos como sexo, idade e peso, não se observaram diferenças estatísticas comparando os grupos hidrocefalias, como visto no APÊNDICE D.

Figura 7 – Fluxograma de pacientes do grupo hidrocefalia e controle arrolados, excluídos e analisados na pesquisa.



Fonte: próprio autor.

Quanto às variáveis sociodemográficas, não foram identificadas diferenças na variável gênero no grupo de tumor benigno (masculino / feminino com 4 casos cada) e no maligno (masculino / feminino com 3 casos cada). Ao ser verificado o grupo de hidrocefalia não-tumoral, evidenciou-se um predomínio de pacientes do sexo feminino ($n=8$, equivalendo a 57,1% dos casos) frente aos pacientes do sexo masculino ($n=6$, equivalendo a 42,9%). Não foram observadas diferenças entre as idades dos pacientes com tumor benigno (média de idade de 73 ± 78 meses, com idade mínima de 10 e máxima de 192 meses) quando comparados aos pacientes do grupo tumor maligno (média de idade de 70 ± 27 , com idade mínima de 36 e máxima de 180 meses) ($p=0,414$), ou quando ambos os grupos foram comparados com os pacientes com hidrocefalia não-tumoral (média de idade de $48,57\pm 56,6$, com idade mínima de 6 e máxima de 180 meses) ($p=0,117$) (Tabela 6).

Em relação às aferições das medidas da maior largura do ventrículo lateral dividida pelo maior diâmetro interno do crânio, correspondente ao índice de *Evans*, não foram identificadas diferenças ($p=1,000$) neste parâmetro entre os grupos de tumor benigno ($0,47\pm 0,07$) e tumor maligno ($0,47\pm 0,08$), e, também, quando comparados aos pacientes com hidrocefalia não-tumoral ($0,5529\pm 0,055$) ($p=0,346$). Contudo, confirma que todos os pacientes apresentaram valores de *Evans* superiores a 0,30, validando o diagnóstico de hidrocefalia (O'hayon, Drake *et al.*, 1998) (Tabela 6). Destaca-se que todos os tipos de hidrocefalia tumoral diagnosticados na população avaliada foram do tipo infantil. Nos casos dos pacientes com

hidrocefalia não-tumoral, 57,14% (n=8) dos pacientes foram diagnosticados com hidrocefalia infantil e 6 (42,86%) casos com hidrocefalia fetal.

Em relação aos procedimentos cirúrgicos (revisões das derivações), após a ressecção tumoral inicialmente, verifica-se que não houve diferenças entre o número de derivações nos grupos de tumor benigno (5±5 / 1-17) ou maligno (5±5 / 1-15) (p=0,755) (Tabela 6). Em ambos os grupos foi verificado o predomínio de derivações comunicantes (benigno=4 (50,0%); maligno= 4 (66,7%), não havendo diferenças nesta associação (p=0,627) (Tabela 6). Também não foram identificadas associações significantes quando associadas aos pacientes com hidrocefalia não-tumoral=12 (85,7%) (p=0,195) (Tabela 6).

Tabela 6 – Caracterização descritiva das variáveis sociodemográficas e clínicas dos pacientes com hidrocefalia tumoral e não-tumoral.

Variáveis	Hidrocefalia Tumoral			Hidrocefalia Não-Tumoral	p
	Benigno	Maligno	p		
Sexo (n/%)					
Masculino	4 (50,0%)	3 (50,0%)	1,000 ^a	6 (42,9%)	0,930 ^a
Feminino	4 (50,0%)	3 (50,0%)		8 (57,1%)	
Idade, em meses (Média/dp - Min. - Máx.)	73±78 (10-192)	70±27 (36-180)	0,414 ^b	48,57±56,6 (6-180)	0,117 ^c
Peso, em Kg (Média/dp - Min. - Máx.)	26,4±20,3 (8-56,0)	24,2±13,2 (5-45,0)	0,852 ^b	14,77 ±6,94 (8-35,0)	0,102 ^c
Índice de Evans	0,47±0,07 (0,38-0,55)	0,47±0,08 (0,39-0,58)	1,000 ^b	0,5529 ±0,055	0,346 ^c
Nº de Derivações	5 ±5 (1-17)	5 ±5 (1-15)	0,755 ^b	6 ±5 (1-17)	0,317 ^c
Tipos de Derivações					
Comunicante	4 (50,0%)	4 (66,7%)	0,627 ^a	12 (85,7%)	0,195 ^a
Não comunicante	4 (50,0%)	2 (33,3%)		2 (14,3%)	
Óbito					
Sim	1 (12,5%)	5 (83,3%)	0,008^a	2 (14,3%)	0,003^a
Não	7 (87,5%)	1 (16,6%)		12 (85,7%)	

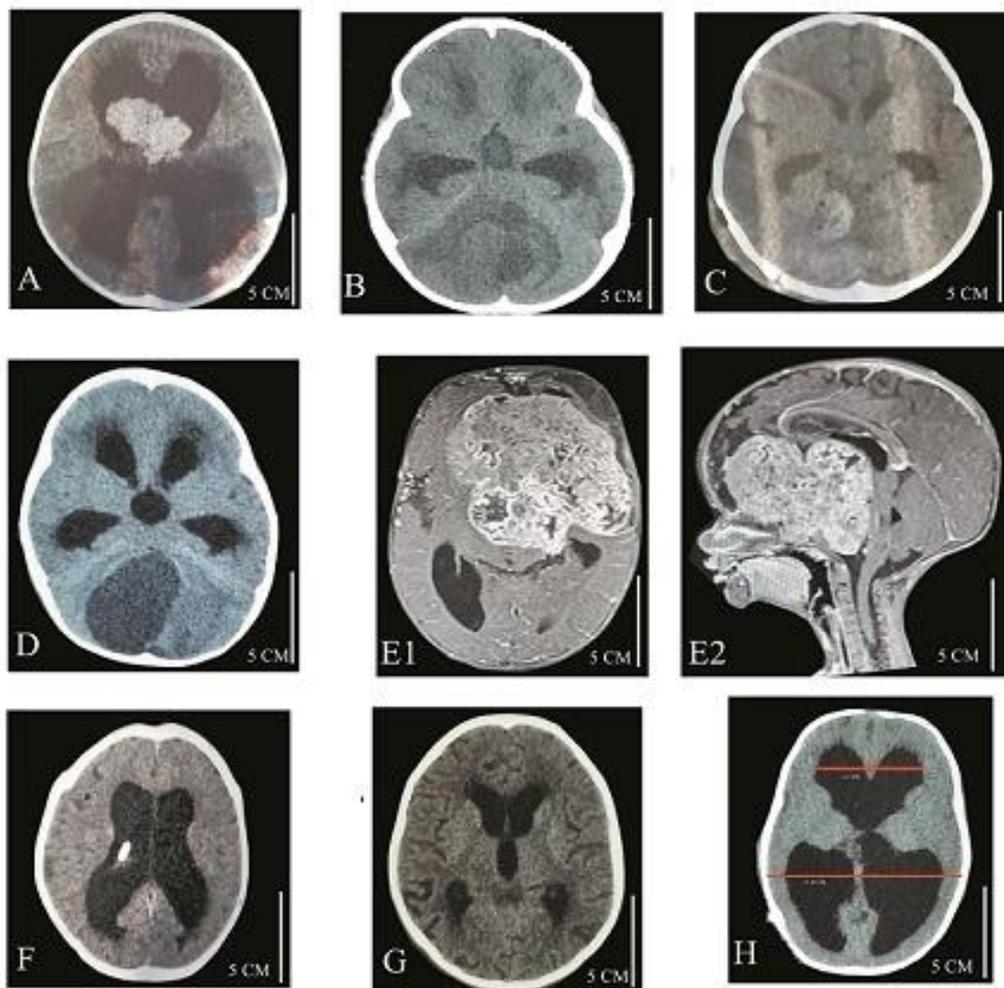
p-valor obtido pelo teste de Qui-Quadrado^a, teste de *Mann-Whitney*^b ou teste de *Kruskal-Wallis* seguido de pós-teste de *Dunn's*^c. Valores em negrito quando **p<0,05**.

Fonte: próprio autor.

Nos estudos das imagens cerebrais dos pacientes a partir de análises de tomografias e ressonâncias, observa-se dilatação dos ventrículos cerebrais, decorrentes majoritariamente de forma não-obstrutiva (comunicante), tanto tumoral benigno ou maligno. Observam-se ainda

sinais indiretos de hipertensão intracraniana, como acentuamento dos giros e sulcos cerebrais. As imagens de ressonância apresentam melhores detalhes no estudo dos tumores cerebrais, como visto na figura 8.

Figura 8 – Painel de imagens de tomografia (TC) e ressonância nuclear magnética (RNM) de crânio de pacientes pediátricos acometidos de hidrocefalia associada a tumores cerebrais primários e de hidrocefalia não-tumoral. A-papiloma de plexo coroide, B - astrocitoma pilocítico Grau I, C- meduloblastoma extensivamente nodular Grau IV D - outro astrocitoma pilocítico Grau I, E1 e E2- meduloblastoma pouco diferenciado, F e G - hidrocefalia de etiologia não-tumoral. H- hidrocefalia, índice de *Evans*.



A- TC de hidrocefalia obstrutiva associada a tumor intraventricular com histologia de papiloma de plexo coroide. B- TC de hidrocefalia não-comunicante de tumor infratentorial compatível com astrocitoma pilocítico Grau I. C- TC de paciente acometido com meduloblastoma extensivamente nodular Grau IV de localização infratentorial associado a hidrocefalia não-comunicante. D- TC de hidrocefalia não-comunicante com evidente dilatação de terceiro ventrículo, decorrente a astrocitoma pilocítico Grau I. E1 e E2- RNM sob modo T1 com contraste em cortes axial e sagital, extrema massa tumoral comprimindo estruturas nobres, regiões intratumorais com sinais de degeneração, histopatológico de meduloblastoma pouco diferenciado. F- hidrocefalia comunicante, paciente submetido à revisão de derivação, observa-se o cateter intraventricular. G- hidrocefalia comunicante com dilatação dos ventrículos laterais e do terceiro ventrículo. H- hidrocefalia comunicante, cálculo do índice de *EVANS* através da divisão da distância entre cornos anteriores dos ventrículos laterais (linha vermelha menor; 6,1 cm) e da distância biparietal em sua maior aferição (linha vermelha maior; 11,41 cm), index encontrado de 0,53.
Fonte: próprio autor.

A tabela 7 apresenta os valores individuais avaliados em relação à Pressão Intracraniana (PIC), tempo de avaliação pós-derivação e quanto aos valores de *PCPC* e de *Glasgow* pré e pós-cirurgia de derivação ventricular. Inicialmente, não foram avaliadas diferenças dos valores de PIC em valores absolutos (mensurados em cm H₂O) na associação inter grupos (tumor benigno=14,25±5,67 versus tumor maligno=24,0±15,03) (p=0,114) e, também, quando esses dois grupos foram associados com os valores de PIC obtidos para os pacientes do grupo hidrocefalia não-tumoral (16,79 ±5,42; p=0,215). Em relação ao tempo de avaliação e estabilidade clínica em dias, também não foram verificadas diferenças entre os pacientes do grupo tumor benigno (3,62±2,77) e tumor maligno (4,5±3,27) (p=0,558) (Tabela 7). Contudo, na associação entre os três grupos, foi identificado que pacientes do grupo de tumor benigno (3,62±2,77) e tumor maligno (4,5±3,27) apresentaram valores superiores em relação ao tempo de avaliação em dias quando comparados aos pacientes com hidrocefalia não-tumoral (1,57±1,08) (p=0,0013) (Tabela 7).

Quando se quantificou os pacientes com a PIC em valores acima de 20 cm H₂O, observaram-se resultados semelhantes, para os pacientes com tumores benignos, um quarto deles continha pressão acima deste valor, enquanto metade dos pacientes com tumores malignos e quatro dos quatorze pacientes com hidrocefalia não-tumoral tinha este valor também acima de 20, não se observou diferença estatística pelo cálculo do Qui-Quadrado (p=0,89).

Não foram verificadas associações intragrupos quando avaliados os valores das escalas de avaliação neurológica dos pacientes pediátricos de *PCPC* e de *Glasgow* pré e pós-procedimento cirúrgico de derivação ventricular (p≥0,05). Contudo, na análise pareada para os pacientes do grupo benigno do grupo maligno, tiveram padrão semelhante, mas sem relevância estatística. Verificou-se que os valores intragrupo de *PCPC* diminuíram e os valores de *Glasgow* aumentaram; ambos em pós-procedimento cirúrgico de derivação (Tabela 7). Foi verificado um aumento de *PCPC* (p=0,015) e uma diminuição do escore *Glasgow* (p=0,003) nos pacientes com hidrocefalia não-tumoral (Tabela 7).

Tabela 7 – Caracterização descritiva individual em relação à Pressão Intracraniana (PIC), tempo de avaliação pós-cirúrgica e quanto aos valores de *PCPC* e de *Glasgow* pré e pós-cirurgia derivação na associação intra e inter grupos.

Grupos	PIC (cmH ₂ O)	p ^a	Tempo de avaliação (dias)	p ^a	PCPC		p ^b	Glasgow		p ^b
					Pré	Pós		Pré	Pós	
Benigno	17		2		5	5		3	3	
Benigno	8		5		3	1		13	13	
Benigno	10		3		3	1		10	13	
Benigno	9		2		1	1		14	14	
Benigno	11		2		1	1	0,062	14	14	0,250
Benigno	21		2		2	1		10	13	
Benigno	23	0,114	10	0,558	3	2		8	10	
Benigno	15		3		2	1		14	14	
Maligno	53		10		4	2		3	10	
Maligno	16		2		1	1		14	14	
Maligno	22		7		3	2	0,250	8	10	0,250
Maligno	24		3		1	1		12	12	
Maligno	19		3		1	1		12	12	
Maligno	10		2		2	1		12	13	
Não-tumoral	10		1		1	1		14	14	
Não-tumoral	9		1		1	1		13	13	
Não-tumoral	24		1		3	1		10	13	
Não-tumoral	11		1		1	1		12	13	
Não-tumoral	16		2		2	1		10	13	
Não-tumoral	18		1		4	1		8	12	
Não-tumoral	17		1		1	1		14	14	
Não-tumoral	22		2		3	1	0,015	9	13	0,003
Não-tumoral	23		2		3	1		9	13	
Não-tumoral	8		1		1	1		13	13	
Não-tumoral	19		2		4	1		8	13	
Não-tumoral	18		5		4	4		3	4	
Não-tumoral	23		1		2	1		13	14	
Não-tumoral	17		1		1	1		12	12	
p^c	0,215	-	0,0013		-	-		-	-	

PCPC.: *Pediatric Cerebral Performance Category*. *PIC*.: Pressão Intracraniana. Tempo de avaliação avaliado em dias. a. Valores analisados pelo teste de *Mann-Whitney*. b. Valores analisados pelo teste pareado de *Wilcoxon*. c. Valores analisados pelo teste de *Kruskal-Wallis* seguido de pós-teste de *Dunn's*.

Fonte: próprio autor.

Não foram identificadas diferenças significantes na associação inter grupo (benigno versus maligno) ou intragrupo pareado do grupo de tumores malignos (**pré**-derivação ventricular e **pós**-resseção tumoral) frente às análises de leucometria em mm³ e Proteína C reativa (PCR) (p>0,05). Os valores de referência de normalidade PCR laboratorial são abaixo de 5 mg/L e valores de referência para leucometria estão entre 4.500 e 13.500/mm³. Na leucometria pré-derivação, apenas um paciente de cada grupo tumoral ultrapassou os limites de normalidade. E apenas um paciente de cada grupo tumoral ultrapassou o PCR limite no estresse de HIC, e os valores médios pré-derivação, foram tumores benignos (18,06±45,58) e tumores malignos (12,30±29,39).

No grupo de hidrocefalia tumoral benigno, observaram-se diferenças significativas na leucometria antes da derivação ventricular e após cirurgia de ressecção tumoral, este não foi observado para o PCR. Os valores médios de leucometria antes da derivação foram para tumores benignos de 7.197 ± 3.958 e para tumores malignos de 10.706 ± 8.312 . E no momento pós-ressecção tumoral, mostrou-se que cinco dos oito pacientes do grupo benigno (valores médios de $51,53 \pm 70,36$) e cinco dos seis do maligno (valores médios de $67,85 \pm 84,23$) tinham PCR elevado. Para a leucometria pós-ressecção, sete dos oito pacientes com tumores benignos e metade dos pacientes com tumores malignos possuíam valores elevados, grupo benigno com média de 15.577 ± 5.583 e grupo maligno com média de 13.990 ± 4.965 . Na Tabela 8, os valores estão sumarizados para cada paciente.

Incluindo-se na análise o grupo de hidrocefalia não-tumoral, no item leucometria, apenas um paciente possuía leucometria fora da normalidade (leucometria valores médios: 10.012 ± 2.834). Não se observou diferença entre os três grupos. E quanto os valores de PCR do grupo não-tumoral ($23,87 \pm 42,0$), pôde-se verificar que os pacientes com este diagnóstico apresentaram valores superiores de PCR prévio à derivação ventricular quando comparados aos pacientes com tumores malignos ($12,30 \pm 29,39$) e benignos ($18,06 \pm 45,58$) ($p=0,039$) (Tabela 8). E sete dos doze pacientes não- tumorais com PCR mensurados possuíam valores acima da referência do teste laboratorial. Para estes resultados, não foram observadas diferenças estatísticas pelo teste do Qui-quadrado.

Tabela 8 – Caracterização descritiva individual em relação à leucometria por mm^3 e a PCR em mg/L inter grupos (benigno *versus* maligno *versus* não-tumoral) ou intra grupo (**pré**-derivação ventricular e **pós**-cirurgia de ressecção tumoral).

Grupos	Leucometria (pré)	Leucometria (pós)	p^b	PCR (pré)	PCR (pós)	p^b
Benigno	2900	2900		130,80	20,10	
Benigno	5365	19600		3,13	212,00	
Benigno	15020	20189		0,30	0,60	
Benigno	4501	14470	0,015	0,30	49,30	0,296
Benigno	8496	17351		0,40	0,40	
Benigno	10530	15673		3,23	69,80	
Benigno	5411	19480		3,10	56,90	
Benigno	5354	14950		3,23	3,13	
Benigno	27100	12008			72,30	
Maligno	10090	22690		0,30	5,20	
Maligno	4747	15217	0,437	0,30	160,10	0,062
Maligno	9630	14920		0,30	0,30	
Maligno	5490	8582		0,30	23,40	
Maligno	7180	10523		0,30	28,10	
Maligno	11020,00				8,94	
Não-tumoral	11050,00			9,30		
Não-tumoral	10470,00			5,10		
Não-tumoral	14800,00			3,13		
Não-tumoral	10410,00			32,20		
Não-tumoral	7706,00			3,23		
Não-tumoral	12400,00			18,80		
Não-tumoral	8151,00			3,13		
Não-tumoral	4877,00			3,02		
Não-tumoral	6554,00			0,30		
Não-tumoral	-			-		
Não-tumoral	13160,00			50,80		
Não-tumoral	-			-		
Não-tumoral	9550,00			148,43		
p-valor	0,173 ^a	0,333 ^c		0,039^a	1,0 ^c	

PCR.: proteína C reativa. a. Teste de *Kruskal-Wallis* seguido de pós-teste de *Dunn's*. b. Valores analisados pelo teste pareado de *Wilcoxon*. c. Valores analisados pelo teste de *Mann-Whitney*. Valores em negrito quando $p < 0.05$. Fonte: próprio autor

8.2 Dosagem dos níveis de interleucinas em amostras de líquido e plasma de pacientes com hidrocefalia tumoral benigna e maligna, e hidrocefalia não-tumoral

Os níveis das interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de plasma e de líquido, frente às associações entre os grupos com hidrocefalia tumoral benigna (n=8) e maligna (n=6), associados aos indivíduos do grupo controle (n=12) serão apresentados nas seções a seguir.

8.2.1 Dosagem de IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de plasma de pacientes com hidrocefalia tumoral benigna e maligna, e hidrocefalia não-tumoral

A partir das análises da interleucina IL-6 (em pg/mL) em amostras de plasma, foi possível identificar que pacientes com hidrocefalia tumoral benigna ($74,39 \pm 14,44$) apresentaram valores médios de IL-6 significativamente inferiores aos indivíduos do grupo controle ($280,09 \pm 283,10$) ($p < 0,001$) e do grupo hidrocefalia não-tumoral ($208,76 \pm 191,34$) ($p = 0,015$) (Tabela 9; Figura 8A).

Em relação à dosagem de IL-10 (em pg/ml), foi identificado que os pacientes com hidrocefalia tumoral benigna ($16,51 \pm 7,90$; $p = 0,003$), maligna ($12,4 \pm 5,80$; $p = 0,016$) e os pacientes com hidrocefalia não-tumoral ($11,58 \pm 5,49$; $p = 0,026$) apresentaram valores de IL-10 significativamente superiores aos indivíduos do grupo controle ($7,57 \pm 2,54$) (Tabela 9; Figura 9B).

Não foram verificadas associações significativas entre os grupos de hidrocefalia tumoral benigna, maligna, hidrocefalia não-tumoral e indivíduos do grupo controle ($109,74 \pm 59,68$) quanto à dosagem sérica plasmática de IL-18 e IL-33 (em pg/mL) ($p > 0,05$) (Tabela 9; Figura 9C e 9D).

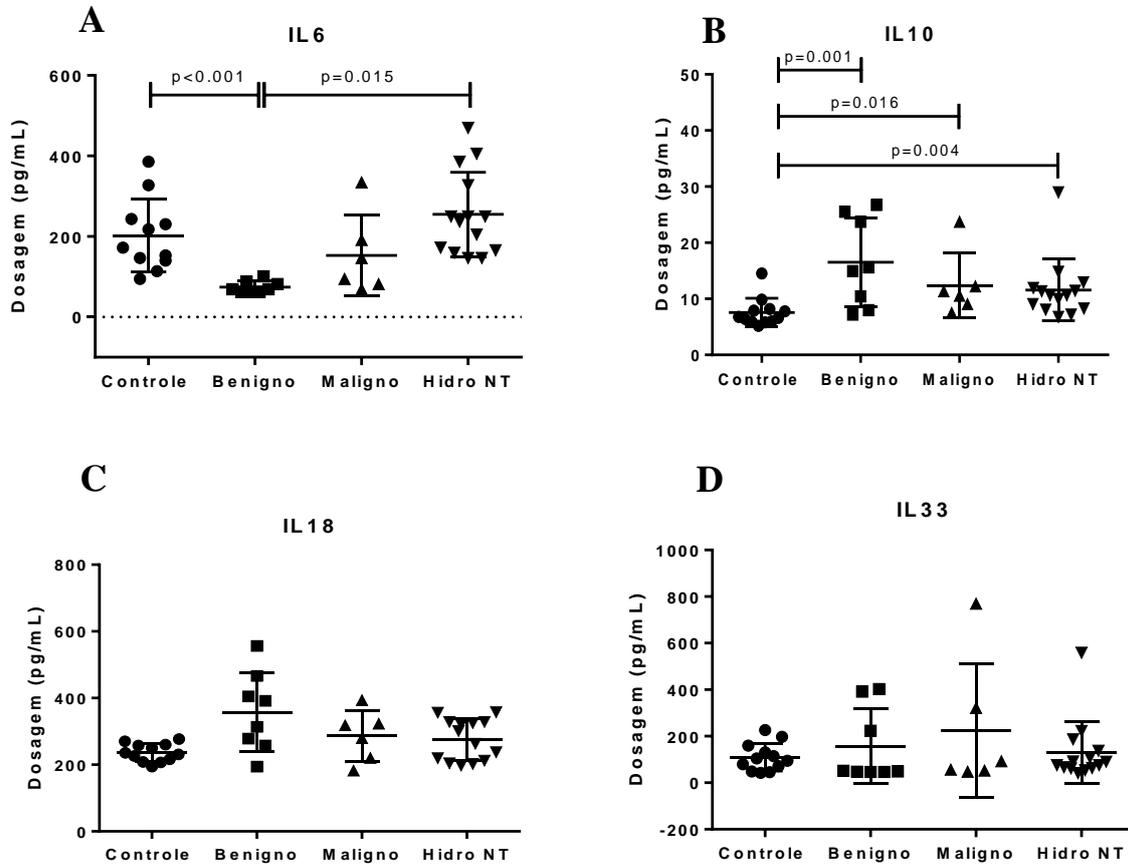
Tabela 9 – Comparação entre os níveis plasmáticos de IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 (valores em pg/mL) em pacientes com hidrocefalia tumoral benigna, maligna, hidrocefalia não-tumoral e indivíduos controles.

Interleucinas	Controles	Benigno	Maligno	Hidrocefalia Não-tumoral	p-valor
IL-6	$280,09 \pm 283,10$	$74,39 \pm 14,44^*$	$152,84 \pm 99,9$	$208,76 \pm 191,34$	0,001
IL-10	$7,57 \pm 2,54$	$16,51 \pm 7,90^*$	$12,4 \pm 5,80^*$	$11,58 \pm 5,49^*$	0,002
IL-18	$236,20 \pm 26,95$	$357,99 \pm 119,29$	$286,23 \pm 76,24$	$275,35 \pm 61,51$	0,067
IL-33	$109,74 \pm 59,68$	$157,30 \pm 159,92$	$223,39 \pm 287,26$	$130,89 \pm 133,49$	0,918

Analisado pelo teste de *Kruskal-Wallis* seguido de pós-teste de *Dunn's*. * para valores com diferenças estatísticas quanto as demais. P-valor em negrito quando **<0.05**.

Fonte: próprio autor.

Figura 9 – Dosagem de IL-6 (A), IL-10 (B), IL-18 (C) e IL-33 (D) em amostras de plasma de pacientes com hidrocefalia tumoral benigna, maligna, hidrocefalia não-tumoral e indivíduos controles.



Hidro NT: hidrocefalia não-tumoral. Todas as análises foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn's. Valores significativos quando $p < 0.05$.

Fonte: próprio autor.

Não foram verificadas correlações entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de plasma de pacientes com hidrocefalia tumoral (Tabela 10) ou hidrocefalia não-tumoral ($p \geq 0.05$) (Tabela 11).

Tabela 10 – Análise de correlação de *Spearman* entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de Plasma de pacientes com hidrocefalia tumoral.

Hidrocefalia tumoral					
Correlações		IL-6	IL-33	IL-18	IL-10
IL6	<i>r</i>	1,000	0,189	-0,360	-0,191
	<i>p</i>	.	0,518	0,207	0,513
	<i>n</i>	14	14	14	14
IL-33	<i>r</i>	0,189	1,000	-0,046	-0,174
	<i>p</i>	0,518	.	0,876	0,552
	<i>n</i>	14	14	14	14
IL-18	<i>r</i>	-0,360	-0,046	1,000	0,238
	<i>p</i>	0,207	0,876	.	0,413
	<i>n</i>	14	14	14	14
IL-10	<i>r</i>	-0,191	-0,174	0,238	1,000
	<i>p</i>	0,513	0,552	0,413	.
	<i>n</i>	14	14	14	14

Analisado pelo teste de correlação de *Spearman*. P-valor em negrito quando <0,05.

Fonte: próprio autor.

Tabela 11 – Análise de correlação de *Spearman* entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de Plasma de pacientes com hidrocefalia não-tumoral.

Hidrocefalia não-tumoral					
Correlações		IL6	IL33	IL18	IL10
IL6	<i>r</i>	1,000	-0,057	-0,149	-0,317
	<i>p</i>	.	0,846	0,611	0,270
	<i>n</i>	14	14	14	14
IL33	<i>r</i>	-,0057	1,000	0,363	0,136
	<i>p</i>	0,846	.	0,202	0,642
	<i>n</i>	14	14	14	14
IL18	<i>r</i>	-0,149	0,363	1,000	0,209
	<i>p</i>	0,611	0,202	.	0,473
	<i>n</i>	14	14	14	14
IL10	<i>r</i>	-0,317	0,136	0,209	1,000
	<i>p</i>	0,270	0,642	0,473	.
	<i>n</i>	14	14	14	14

Analisado pelo teste de correlação de *Spearman*. p-valor em negrito quando <0.05.

Fonte: próprio autor.

8.2.2 Dosagem de IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de líquido de pacientes com hidrocefalia tumoral benigna e maligna

Frente às análises das dosagens de IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 (valores em pg/mL) em amostras de líquido, identificou-se que os pacientes dos grupos hidrocefalia tumoral benigna ($151,42 \pm 9,52$, $p=0,004$, pelo teste de *Dunn's*), maligna ($153,20 \pm 9,12$, $p=0,002$, pelo teste de

Dunn's) e hidrocefalia não-tumoral ($149,76 \pm 10,53$, $p=0,002$, pelo teste de *Dunn's*) apresentaram valores de IL-18 em amostras de líquido superiores aos indivíduos controles ($139,45 \pm 2,85$) (Figura 10; Tabela 12).

Tabela 12 – Comparação entre os níveis de IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 (pg/mL) em amostras de líquido em pacientes com hidrocefalia tumoral benigna, maligna e não-tumoral indivíduos controles.

Interleucinas	Controles	Benigno	Maligno	Hidrocefalia não-tumoral	p-valor
IL-6	278,47±117,49	266,88±120,00	254,98±104,37	254,98±104,37	0,792
IL-10	10,88±3,86	10,17±3,17	11,58±4,11	10,77±2,67	0,836
IL-18	139,45±2,85	151,42±9,52*	153,20±9,12*	149,76±10,53*	0,002
IL-33	46,28±2,92	55,87±23,07	46,98±2,71	47,26±5,17	0,510

a. Analisado pelo teste de *Kruskal-Wallis* seguido de pós-teste de *Dunn's*. b. Analisado pelo teste de ANOVA one-way seguido de pós-teste de *Games-Howell*. * para valores com diferenças estatísticas quanto às demais. P-valor em negrito quando $<0,05$.

Fonte: próprio autor.

Não foram identificadas diferenças entre as dosagens de IL-6, IL-10 e IL-33 em amostras de líquido dos pacientes com hidrocefalia tumoral benigna, maligna e o grupo controle ($p \geq 0,05$) (Tabela 8). Além disto, também não foram verificadas correlações entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de líquido de pacientes com hidrocefalia tumoral (Tabela 13) ou hidrocefalia não-tumoral (Tabela 14) ($p \geq 0,05$).

Tabela 13 – Análise de correlação de *Spearman* entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de Líquor de pacientes com hidrocefalia tumoral

		Hidrocefalia tumoral			
Correlação		IL-6	IL-33	IL-18	IL-10
IL-6	<i>r</i>	1,000	0,391	0,328	-0,057
	p	.	0,167	0,253	0,846
	n	14	14	14	14
IL-33	<i>r</i>	0,391	1,000	0,084	-0,273
	p	0,167	.	0,776	0,344
	n	14	14	14	14
IL-18	<i>r</i>	0,328	0,084	1,000	-0,283
	p	0,253	0,776	.	0,326
	n	14	14	14	14
IL-10	<i>r</i>	-0,057	-0,273	-0,283	1,000
	p	0,846	0,344	0,326	.
	n	14	14	14	14

Analisado pelo teste de correlação de *Spearman*. P-valor em negrito quando $<0,05$.

Fonte: próprio autor.

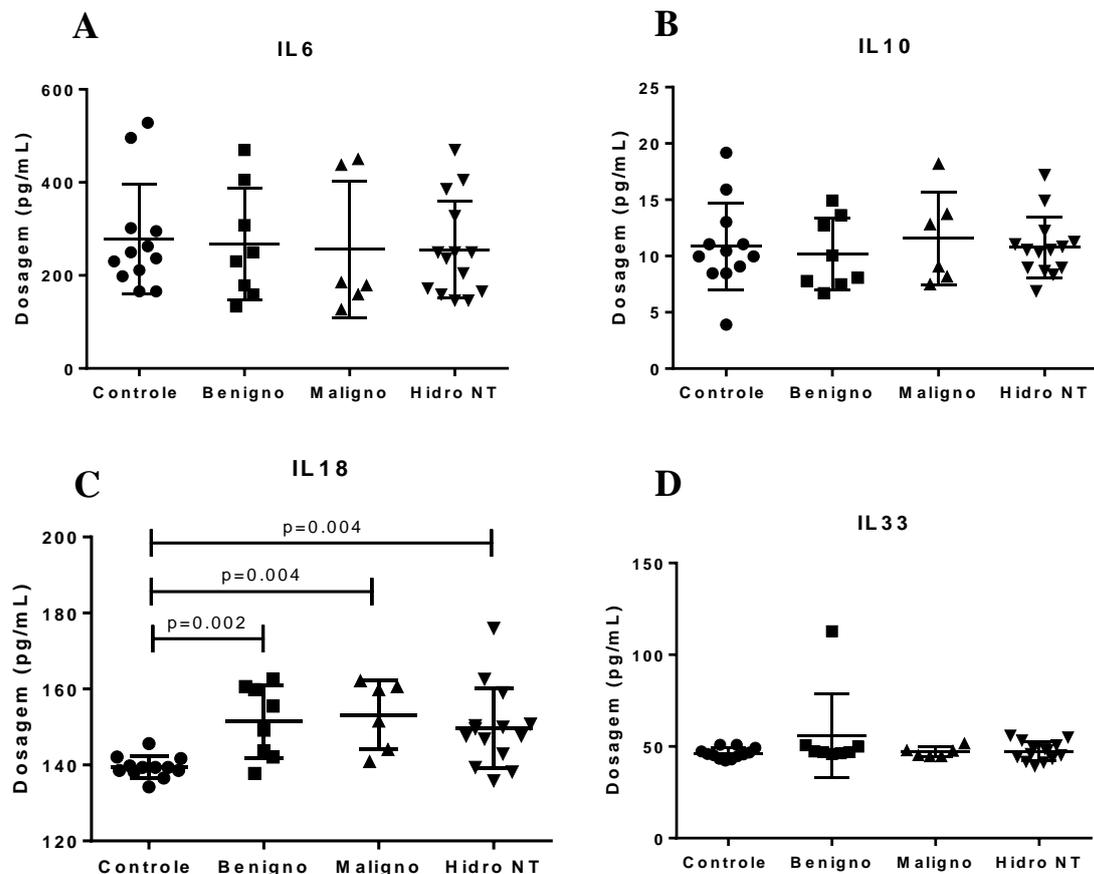
Tabela 14 – Análise de correlação de *Spearman* entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de Líquor de pacientes com hidrocefalia não-tumoral.

Hidrocefalia não-tumoral					
Correlação		IL6	IL33	IL18	IL10
IL6	<i>r</i>	1,000	-0,018	-0,096	0,152
	p	.	0,952	0,743	0,605
	n	14	14	14	14
IL33	<i>r</i>	-0,018	1,000	-0,389	0,024
	p	0,952	.	0,169	0,934
	n	14	14	14	14
IL18	<i>r</i>	-0,096	-0,389	1,000	-0,186
	p	0,743	0,169	.	0,524
	n	14	14	14	14
IL10	<i>r</i>	0,152	0,024	-0,186	1,000
	p	0,605	0,934	0,524	.
	n	14	14	14	14

Analisado pelo teste de correlação de *Spearman*. p-valor em negrito quando <0.05.

Fonte: próprio autor.

Figura 10 – Dosagem de IL-6 (A), IL-10 (B), IL-18 (C) e IL-33 (D) em amostras de líquido de pacientes com hidrocefalia tumoral benigna, maligna, hidrocefalia não-tumoral e indivíduos controles.



Todas as análises foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn's. Valores significativos quando $p < 0,05$.

Fonte: próprio autor.

8.2.3 Correlação das dosagens de IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de plasma de pacientes com hidrocefalia tumoral benigna e maligna frente aos parâmetros de pressão intracraniana e de proteína C reativa e leucometria prévia à cirurgia de derivação

A partir das análises de correlação de *Spearman*, foi possível identificar que as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33, dosadas em amostras de plasma, não apresentaram correlação com os parâmetros de PIC e de PCR e leucometria prévia à cirurgia de derivação ($p \geq 0.05$) tanto no grupo de hidrocefalia tumoral (Tabela 15) quanto no grupo de hidrocefalia não-tumoral (Tabela 16).

Tabela 15 – Análise de correlação de *Spearman* entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de plasma de pacientes com hidrocefalia tumoral benigna e maligna em relação aos parâmetros de PIC, PCR e leucometria.

Hidrocefalia tumoral					
Correlações		IL-6	IL-33	IL-18	IL-10
PIC	<i>r</i>	0,358	0,073	-0,187	-0,273
	p	0,209	0,805	0,522	0,345
	n	14	14	14	14
PCR pré	<i>r</i>	-0,394	-0,207	-0,125	-0,129
	p	0,163	0,478	0,671	0,659
	n	14	14	14	14
Leucometriapré	<i>r</i>	0,342	0,213	0,024	0,178
	p	0,232	0,464	0,935	0,542
	n	14	14	14	14

Legenda: PIC: Pressão Intra Craniana. PCR: Proteína C Reativa. Leucometria e PCR Pré-cirúrgica de derivação para o grupo de Hidrocefalia tumoral. Analisado pelo teste de correlação de *Spearman*. p-valor em negrito quando $< 0,05$. Fonte: próprio autor.

Tabela 16 – Análise de correlação de *Spearman* entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de plasma de pacientes com hidrocefalia não-tumoral em relação aos parâmetros de PIC, PCR e leucometria

Hidrocefalia não-tumoral					
Correlações		IL6	IL33	IL18	IL10
PIC	<i>r</i>	0,076	-0,406	-0,514	0,049
	p	0,795	0,150	0,060	0,869
	n	14	14	14	14
PCR pré	<i>r</i>	-0,172	-0,231	0,313	0,078
	p	0,556	0,426	0,276	0,790
	n	14	14	14	14
Leucometria pré	<i>r</i>	-0,493	0,075	0,465	0,239
	p	0,073	0,799	0,094	0,411
	n	14	14	14	14

Legenda: PIC: Pressão Intra Craniana. PCR: Proteína C Reativa. Leucometria e PCR Pré-cirúrgica de derivação para o grupo de Hidrocefalia tumoral. Analisado pelo teste de correlação de *Spearman*. p-valor em negrito quando $< 0,05$. Fonte: próprio autor.

8.2.4 Correlação das dosagens de IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de líquido de pacientes com hidrocefalia tumoral benigna e maligna frente aos parâmetros de pressão intracraniana e de proteína C reativa e leucometria prévia à cirurgia de derivação

Não foram identificadas correlações entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33, dosadas em amostras de líquido, em relação aos parâmetros de PIC e de PCR e leucometria prévia à cirurgia de derivação ($p \geq 0,05$) no grupo de hidrocefalia tumoral (Tabela 17). No grupo de hidrocefalia não-tumoral, observaram-se duas correlações, entre IL-33 e valores de PCR pré-derivação ventricular, e entre IL-18 e leucometria pré-cirúrgica (Tabela 18).

Tabela 17 – Análise de correlação de *Spearman* entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de líquido de pacientes com hidrocefalia tumoral em relação aos parâmetros de PIC, PCR e leucometria

Hidrocefalia tumoral					
Correlações		IL6	IL33	IL18	IL10
PIC	<i>r</i>	0,218	-0,024	0,234	0,242
	p	0,453	0,934	0,421	0,404
	n	14	14	14	14
PCR Pré	<i>r</i>	-0,265	-0,027	0,049	-0,468
	p	0,360	0,927	0,867	0,091
	n	14	14	14	14
Leucometria Pré	<i>r</i>	0,280	-0,106	0,154	0,112
	p	0,333	0,719	0,599	0,703
	n	14	14	14	14

Legenda: PIC: Pressão Intra Craniana. PCR: Proteína C Reativa. Leucometria e PCR Pré-cirurgia de derivação para o grupo de Hidrocefalia tumoral. Analisado pelo teste de correlação de *Spearman*. P - valor em negrito quando $< 0,05$. Fonte: próprio autor.

Tabela 18 – Análise de correlação de *Spearman* entre as interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de líquido de pacientes com hidrocefalia não-tumoral em relação aos parâmetros de PIC, PCR e leucometria.

Hidrocefalia não-tumoral					
Correlações		IL6	IL33	IL18	IL10
PIC	<i>r</i>	0,408	0,057	-,398	-0,082
	p	0,148	0,846	0,158	0,781
	n	14	14	14	14
PCR Pré	<i>r</i>	0,104	-0,599*	0,395	-0,258
	p	0,723	0,024	0,163	0,373
	n	14	14	14	14
Leucometria Pré	<i>r</i>	0,095	-,196	0,588*	-0,303
	p	0,746	,502	0,027	0,292
	n	14	14	14	14

Legenda: PIC: Pressão Intra Craniana. PCR: Proteína C Reativa. Leucometria e PCR Pré-cirúrgico de derivação para o grupo de Hidrocefalia tumoral. Analisado pelo teste de correlação de *Spearman*. p-valor em negrito quando $< 0,05$. Fonte: próprio autor.

8.2.5 Associação da dosagem de interleucinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 em amostras de plasma e líquido na estratificação dos pacientes com hidrocefalia tumoral em tumores benignos e malignos

A partir da análise da tabela 12, foi possível verificar que pacientes com tumores malignos ($152,8 \pm 99,9$) apresentaram uma maior dosagem de IL-6 no plasma quando comparados aos pacientes com tumores benignos ($74,39 \pm 14,44$) ($p=0,029$). Não foram identificadas as mesmas diferenças entre as interleucinas IL-10, IL-18 e IL-33 na associação tumor benigno ou maligno, que seja oriundo de dosagem no líquido ou no plasma (Tabela 19).

Entretanto, a razão entre valores sorológicos e líquóricos, entre as citocinas IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33, e os três grupos (tumores benigno e maligno, e controle), demonstraram diferenças na razão plasma e líquido em IL-6 do grupo benigno ($0,32 \pm 0,15$), comparado aos grupos malignos ($0,75 \pm 0,60$), não-tumoral ($1,01 \pm 1,21$) e controle ($1,22 \pm 1,47$), ($p=0,016$). Também se observou na razão IL-10, plasma e líquido para o grupo benigno ($1,24 \pm 0,96$), comparado a outros grupos (malignos: $0,79 \pm 0,39$, não-tumoral: $1,12 \pm 0,52$ e controle: $1,24 \pm 0,96$), ($p=0,04$). As demais citocinas na divisão dos valores de plasma e líquido tiveram comportamento semelhante, visto no APÊNDICE F.

Tabela 19 – Avaliação das dosagens de IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33 (valores em pg/mL) em amostras de plasma e líquido na associação entre tumores benignos e malignos em pacientes com hidrocefalia tumoral.

Imunomarcações	Hidrocefalia Tumoral		P
	Benigno (N=8)	Maligno (N=6)	
IL-6 (líquor)	266,9 \pm 120,0	256,4 \pm 146,8	0,729
IL-6 (plasma)	74,39 \pm 14,44*	152,8 \pm 99,9	0,029
IL-10 (líquor)	10,17 \pm 3,174	11,58 \pm 4,112	0,433
IL-10 (plasma)	16,51 \pm 7,905	12,40 \pm 5,804	0,433
IL18 (líquor)	151,4 \pm 9,522	153,2 \pm 9,117	0,729
IL-18 (plasma)	358,0 \pm 119,3	286,2 \pm 76,24	0,398
IL-33 (líquor)	55,87 \pm 23,07	46,98 \pm 2,710	0,395
IL-33 (plasma)	157,3 \pm 159,9	223,4 \pm 287,3	0,410

Analizados pelo teste de *Mann-Whitney*. Valores em negrito quando $p < 0,05$.

Fonte: próprio autor.

8.3 Caracterização das imunomarcações para CD4, CD8, CD20, CD45, CD45RO, CD68 e GFAP, por imuno-histoquímica, e contagem celular em HE, na associação entre tumores benignos e malignos. E painel de imagens histológicas.

No objetivo de avaliar se existem alterações de expressão de marcadores imunológicos e estrutural em células de suporte do SNC, verificamos o perfil das imunomarcações para CD4, CD8, CD20, CD45, CD45RO, CD68, e GFAP na associação entre tumores benignos e malignos dos pacientes em porcentagem de área marcadas de suas biopsias tumorais, e análise semiquantativa celular (escore da porcentagem de células marcadas e categoria de intensidade de coloração). Além de alterações significativas na contagem geral de células coradas em HE. As principais células da glia avaliadas foram micróglia/macrófago e linfócitos sendo ambos associados a tumores cerebrais.

Na avaliação de linfócitos associados a tumores tanto benignos quanto malignos, através dos marcadores (CD4, CD8, CD20), não se observaram diferenças significativas, exceto no quesito escore de porcentagem de células marcadas para CD8, os linfócitos citotóxicos. Os tumores malignos tiveram uma tendência entre o escore 1 e 2. Para as células com marcação do conjunto CD45 e CD45RO, no primeiro marcador, não se obteve diferença na agressividade tumoral, e no último marcado, os tumores malignos demonstraram maiores valores com diferenças significativas. Os grupos tumores com marcação de CD68 para micróglia/macrófago, não apresentaram diferenças, entre grupos. E no marcador estromal de tecidos cerebrais, GFPA, não demonstrou alterações importante entre grupos. Estes resultados estão demonstrados na tabela 20.

Tabela 20 – Avaliação de imunomarcações para CD4, CD8, CD20, CD45, CD45RO, CD68 e GFAP em tumores malignos e benignos em pacientes com hidrocefalia tumoral.

Imunomarcações	Benigno	Maligno	Benigno	Maligno	Benigno	Maligno	P ^a	P ^b	P ^c
Imuno-histoquímica	% área marcada		escore % de células marcadas		categoria de coloração				
CD4	2,14 ±2,08	1,51 ±0,87	1,18 ±0,49	1,75 ±0,52	1,09 ±0,57	1,33 ±0,51	0,78	0,12	0,49
CD8	1,38 ±0,63	1,69 ±0,64	1,04 ±0,11	1,41 ±0,37	1,25 ±0,29	1,0 ±0,0	0,41	0,04	0,08
CD20	0,54 ±0,31	0,50 ±0,47	1,37 ±0,44	1,62 ±0,44	1,37 ±0,45	0,83 ±0,40	0,54	0,34	0,58
CD45	4,24 ±4,65	3,57 ±1,29	4,0 ±0,0	4,0 ±0,0	1,81 ±0,89	1,57 ±0,49	0,43	1,0	0,92
CD45RO	1,28±0,34	2,48 ±1,20	1,51 ±0,29	1,87 ±0,20	1,0 ±0,0	1,33 ±0,51	0,04	0,03	0,16
CD68	1,41 ±0,35	1,38 ±0,75	1,51 ±0,31	1,62 ±0,37	1,0 ±0,0	1,0 ±0,0	0,54	0,55	1,0
GFAP	21,26 ±14,27	21,47 ±10,94	1,86 ±0,49	1,93±0,48	2,29 ±0,74	2,60 ±0,54	0,88	0,95	0,46
Coloração HE	N		N				p-valor ^d		
Número células	5024 ±1896		5127 ±2015				0,6753		

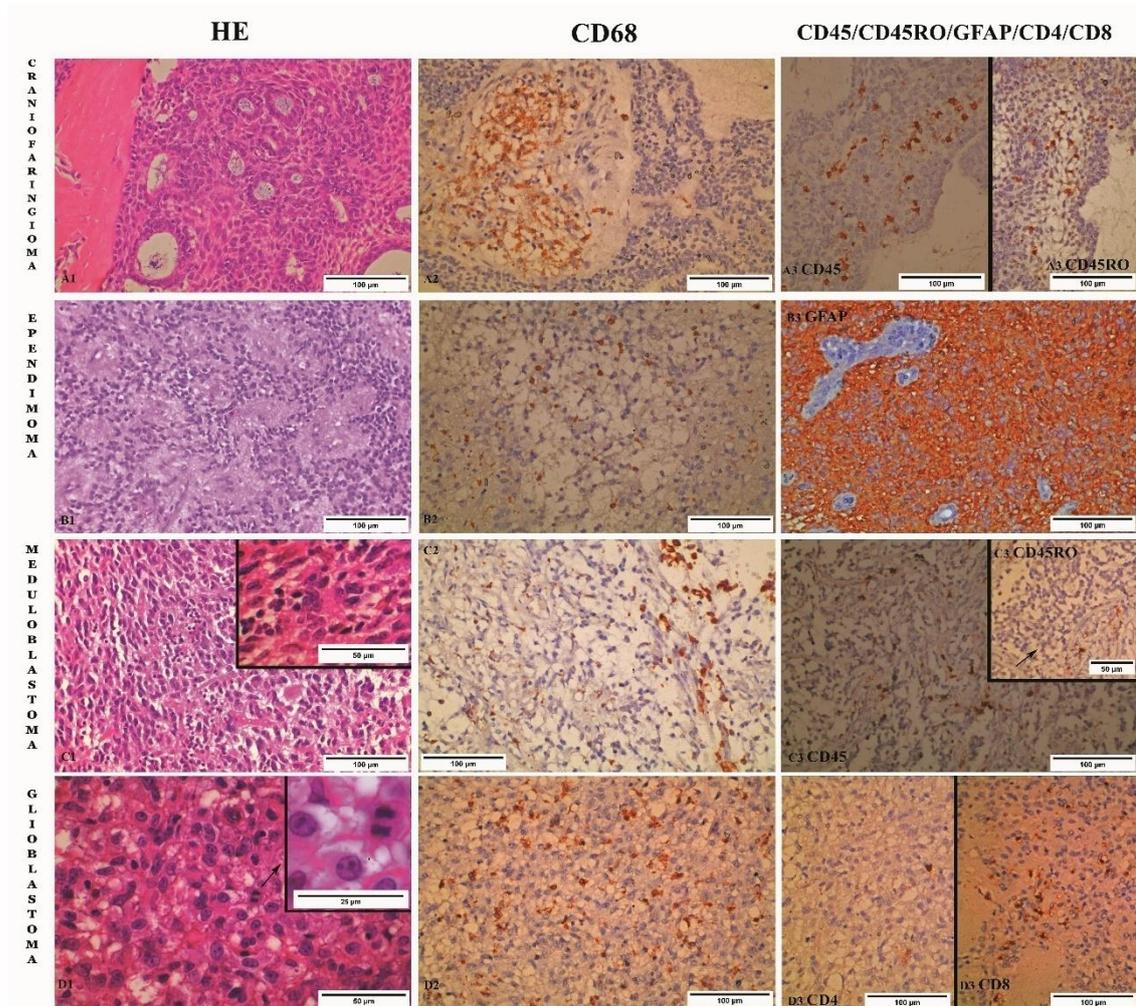
Percentagem de área e análise semiquantitativa (escore da percentagem de células marcadas e categoria de intensidade de coloração) com metodologia de imuno-histoquímica e contagem de células por coloração em HE. CD: *Cluster of Differentiation*. HE: hematoxilina-eosina. GFAP: *Glial Fibrillary Acidic Protein*. Percentagem da área marcada devida pela área total de tecido na imagem analisada. Escore de percentual de área corada (0- ausência de marcação; 1- menos de 10%; 2- entre 10% e 30%; 3- entre 31% e 60%; 4- mais de 60%). Categorias de coloração (0- ausência; 1- fraca; 2- coloração moderada; 3- forte). P-valor^a: referente à percentagem de área marcada. P-valor^b: escore de percentagem de células marcadas. P-valor^c: categoria de coloração de célula marcada. E p-valor^d: quantidade de células em histologia HE. Todos os p-valores foram analisados pelo teste de *Mann-Whitney*. Valores em negrito quando **p<0,05**.

Fonte: próprio autor.

No padrão de estudo histológico geral, através do hematoxilina-eosina (HE), os tumores malignos tiveram um padrão anárquico, mostraram altos números de células em estágio de mitose, numerosos vasos intratumorais, e um estroma compacto. Os tumores em benignos mostram o inverso da descrição anterior. No estudo imuno-histoquímico dos tumores cerebrais, teve-se um maior espectro de estudo das células da glia, como observado na figura 11. Observaram-se as micróglia/macrófagos, os linfócitos, e o tecido de sustentação neuronal. A marcação histológica das células por CD68 teve padrão semelhante ao estudo de imunofluorescência, semelhante principalmente com o padrão CD40. Os marcadores CD45 e CD45RO tiveram padrões semelhantes tanto nos tumores malignos como nos benignos, e manteve-se a menor expressão da isoforma de CD45, o CD45RO, em todas as imagens. Estas células marcadas estavam dentro de nichos de células inflamatórias. As marcações de linfócitos T infiltrando os tumores eram escassas, porém sempre presentes, principalmente nos setores histológicos com células inflamatórias. Eram observados tanto células T auxiliares CD4 como células T citotóxicas CD8. A imunomarcação da proteína ácida fibrilar glial (GFAP) esteve

presente em todos os cortes histológicos, em menor e em maior grau, sendo mais presentes em tumores como ependimoma. Vistos na figura 11.

Figura 11 – Painel de imagens de imuno-histoquímica para marcação de CD4, CD8, CD45, CD45RO, CD68 e GFAP e histopatológico (HE) em tumores cerebrais pediátricos



A1 a A3- craniofaringioma adamantinomatoso. B1 a B3- ependimoma grau II. C1a C3- meduloblastoma. D1 a D3- glioblastoma grau IV. CD: *Cluster of Differentiation*. HE: hematoxilina-eosina. GFPA: *Glial Fibrillary Acidic Protein*. Primeira coluna da esquerda, HE demonstrando arquitetura celular e na ampliação, graus de mitose. Coluna central marcação de CD68, demonstrando ninchos de células inflamatórias. A3 (craniofaringioma) e C3 (meduloblastoma) - marcação de macrófago/micróglia em CD45 e CD45RO, seta apontando células imunológicas com menor marcação de CD45RO comparado ao CD45. B3 (ependimoma) - marcação tumoral em GFPA. D1 (glioblastoma) em HE - seta apontando célula em estado de mitose e D3 marcação em CD4 e CD8, marcando linfócitos T infiltrados em tumor. Ampliação de imagens em 100 µm (objetivas de 40x) quadros maiores e em quadros menores 50 µm (objetivas de 100x).

Fonte: próprio autor.

8.4 Análise da imunomarcção de CD40, CD206 e IBA1 e co-localizações por imunofluorescência em tumores benignos e malignos

Na metodologia de imunofluorescência, houve foco específico para micróglia/macrófago, foi verificado um aumento de expressão do imunomarcador CD206 em pacientes com tumores benignos ($1,962 \pm 0,549$) frente a pacientes com tumores malignos ($0,6494 \pm 0,191$) ($p < 0,001$) em porcentagem de área marcada. Adicionalmente, verificou-se que a imunomarcção de IBA1 com co-marcação de CD206 das imagens também foi aumentada nos pacientes com tumores benignos ($4,551 \pm 1,649$ versus $3,213 \pm 2,082$), entretanto a diferença foi não estatisticamente significativa ($p = 0,08$). No entanto, internamente para os tumores malignos, observou-se uma predominância significativa para M1, percentagem do CD40 maior que a do CD206, ($2,463 \pm 1,291$ vs $0,6494 \pm 0,191$), com $p = 0,02$. Nos tumores benignos, a comparação de valores em porcentagem de área marcada, para CD40 vs CD206 teve um p-valor de 0,19; assim não demonstra-se tendência de marcação CD40 ou CD206. Quando se somaram as áreas marcadas para IBA1 nas imagens para CD40 e CD206, não se observaram diferenças estatísticas, benignos= $5,232 \pm 2,318$ e malignos= $4,899 \pm 3,229$ ($p = 0,389$). Na tabela 21 e na figura 12, os valores em porcentagem estão melhores detalhados.

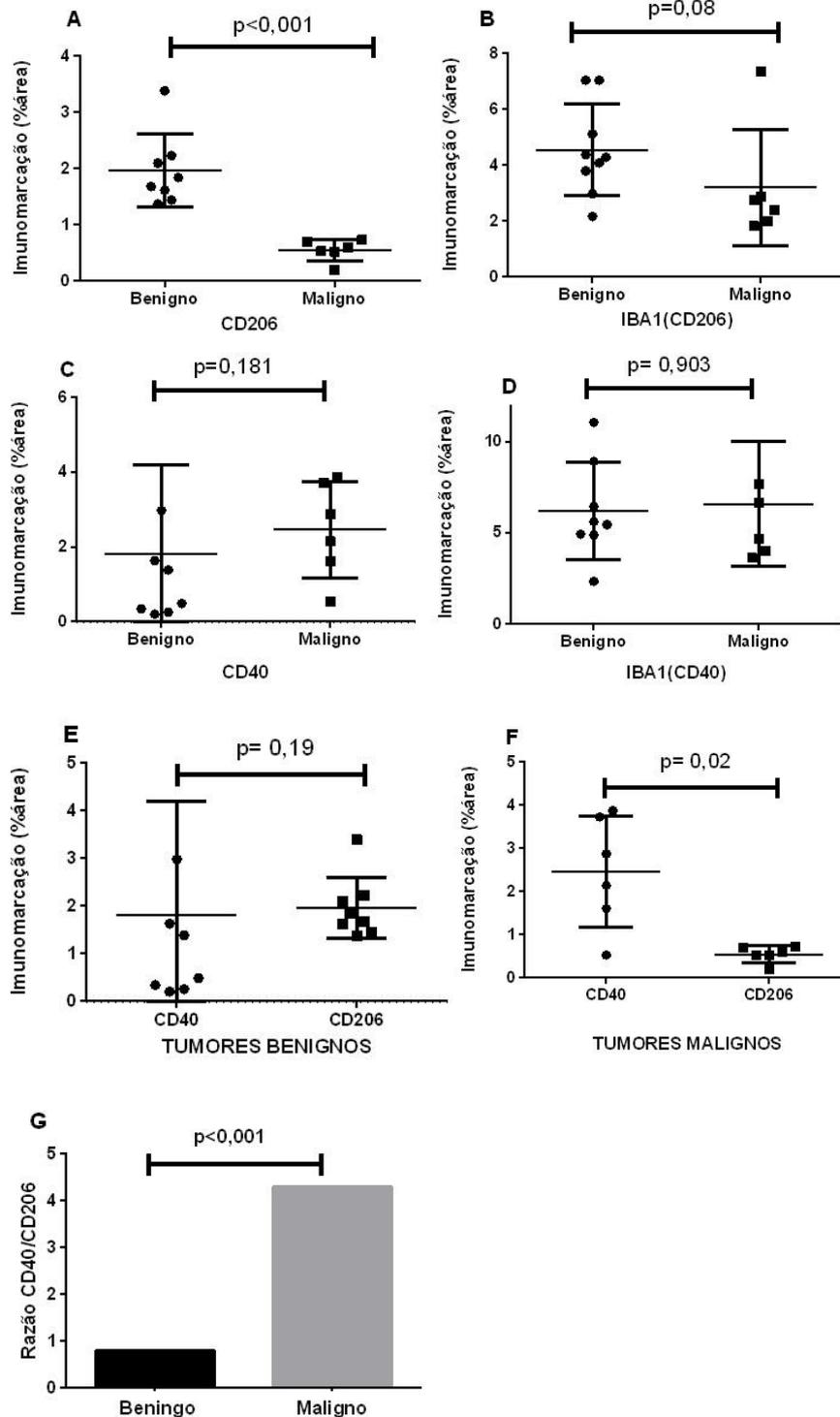
Tabela 21 – Avaliação de imunomarcções em porcentagem de área com metodologia de imunofluorescência para CD40 e CD206, co-localização de CD40 ou CD206 com IBA1 e razão CD40/CD206 entre tumores benignos e malignos.

Imunomarcções	Hidrocefalia Tumoral		p ^a
	Benigno	Maligno	
Imunofluorescência	% área marcada	% área marcada	
CD206	1,962 ±0,549	0,649 ±0,191	<0,001
IBA1 (CD206)	4,551±1,649	3,213±2,082	0,083
Co-localização (CD206+IBA1)	42,16 ±14,57	34,14 ±13,62	0,471
CD40	1,817 ±2,383	2,463 ±1,291	0,181
IBA1 (CD40)	6,224 ±2,675	6,584 ±3,432	0,903
Co-localização (CD40+IBA1)	29,88 ±15,18	35,07 ±10,85	0,485
Polarização de macrófago/micróglia	Benigno	Maligno	
CD40 (% área)	1,817 ±2,383 ^b	2,463 ±1,291 ^b	-
CD206 (% área)	1,962 ±0,549 ^b	0,6494 ±0,191 ^b	-
Razão CD40/CD206	0,793 ±0,759	4,298±1,712	<0,001
p^b	0,19	0,02	

CD: Cluster of Differentiation. IBA1: ionized calcium-binding adapter molecule 1. Percentagem da área marcada devida pela área total de tecido na imagem analisada. Percentagem de co-localização de área CD40 ou CD206 em IBA1 pela área total do marcador IBA1. Polarização M1: maior proporção de macrófago/micróglia para marcação CD40, e M2: maior proporção de macrófago/micróglia para marcação CD206. P^a-valores obtidos pelo teste de Mann-Whitney comparando grupos benigno e maligno. P^b-valores obtidos pelo teste de Mann-Whitney comparando CD40 e CD206 intergrupos. Valores em negrito quando **p<0,05**.

Fonte: próprio autor.

Figura 12 – Análise da imunomarcção para CD40, CD206, IBA1 e co-localizações em amostras de tumores benignos e malignos de pacientes com hidrocefalia.

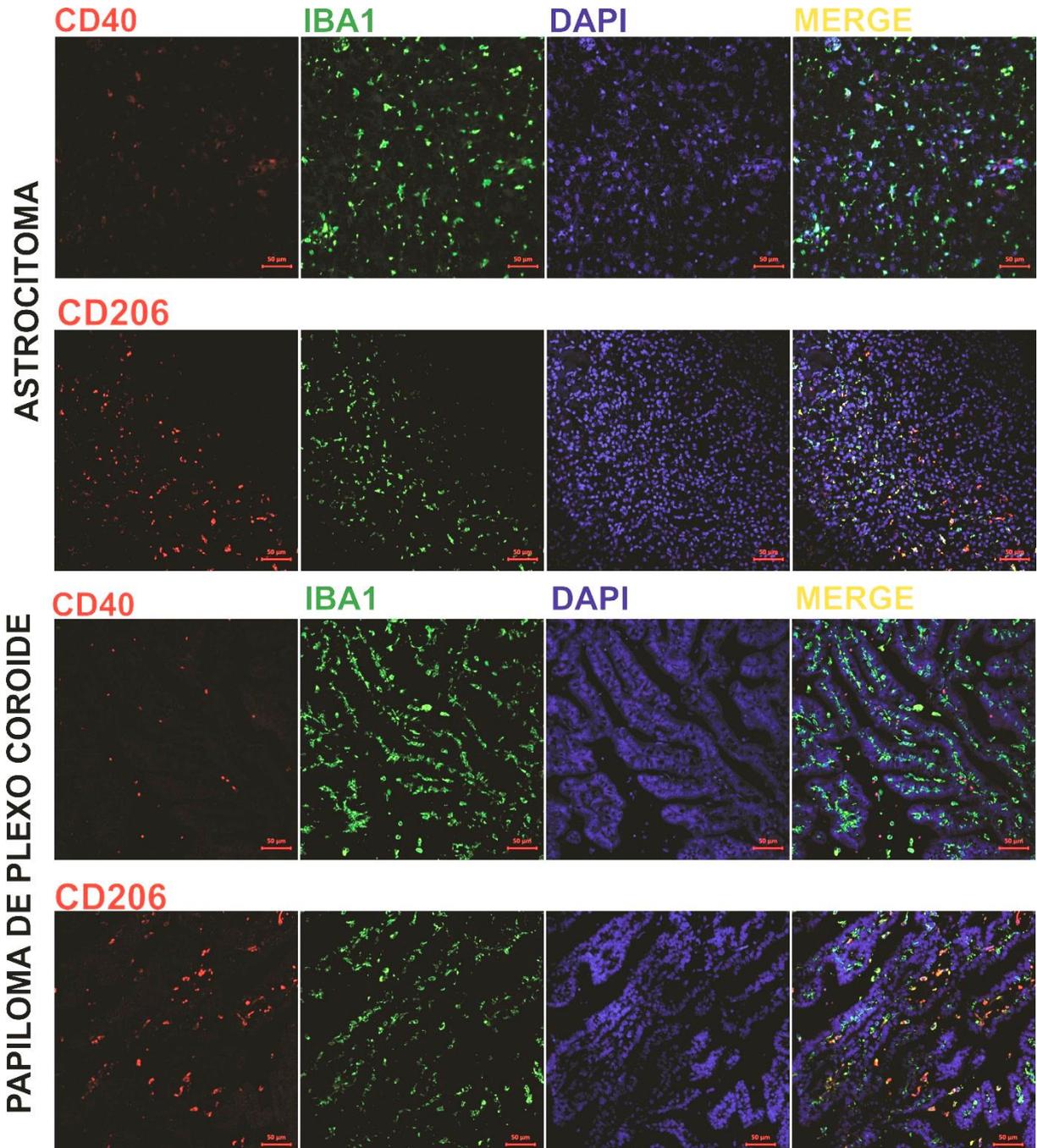


Marcação para CD206 em tumores malignos e benignos (A); marcação de IBA1 em imagens compartilhadas de marcação CD206 em tumores malignos e benignos (B); marcação para CD40 em tumores malignos e benignos (C); marcação para IBA1 em imagens compartilhadas de marcação CD40 em tumores malignos e benignos (D) marcação para CD206 e CD40 em tumores benignos (E) e malignos (F) e comparação de razões de CD40 e CD206 entre tumores (G). CD: *Cluster of Differentiation*. IBA1: *ionized calcium-binding adapter molecule 1*. A polarização M1 ocorre em predomínio de marcação em CD40, enquanto a polarização M2 é observada em predomínio de macrófago/micróglia com marcador CD-206. P - valores obtidos, pelo teste de *Mann-Whitney*. Fonte: próprio autor

8.5 Painel de Imagens

Na marcação com imunofluorescência, houve ênfase no estudo de micróglia/macrófago que estava associado aos tumores cerebrais, notou-se vários nichos de células de defesa junto a células tumorais, como observado na figura 13 para tumores benignos e na figura 14 para tumores malignos. Genericamente os vasos sanguíneos observados nos cortes histológicos continham células marcadas com IBA1 perivasculares, nos outros locais com necrose tumoral, estas células também estavam presentes e nos permeios do estroma tumoral. O marcador de macrófago/micróglia IBA1 estava selecionado para a cor verde e os marcadores mais específicos de tipo de polarização (CD40 ou CD206) estava em vermelho. Para avaliar a presença de células nucleadas, o marcador DAPI mostrou-se em azul. Na somação de imagens, quando a célula com marcação específica para CD40 ou CD206 demonstrou uma coloração magenta, significava a mesclagem cor vermelho com azul (célula viável, nucleada), e a cor ciano foi a mesclagem de verde com azul com marcação de célula nucleada com marcação de IBA1. Outras cores secundárias e terciária foram observadas, demonstrando grande variação e ordenamento. A cor esbranquiçada seria a equivalência da mistura de azul, vermelho e verde, significando a coexistência dos marcados CD40 ou CD206, acrescidos de IBA1 e DAPI.

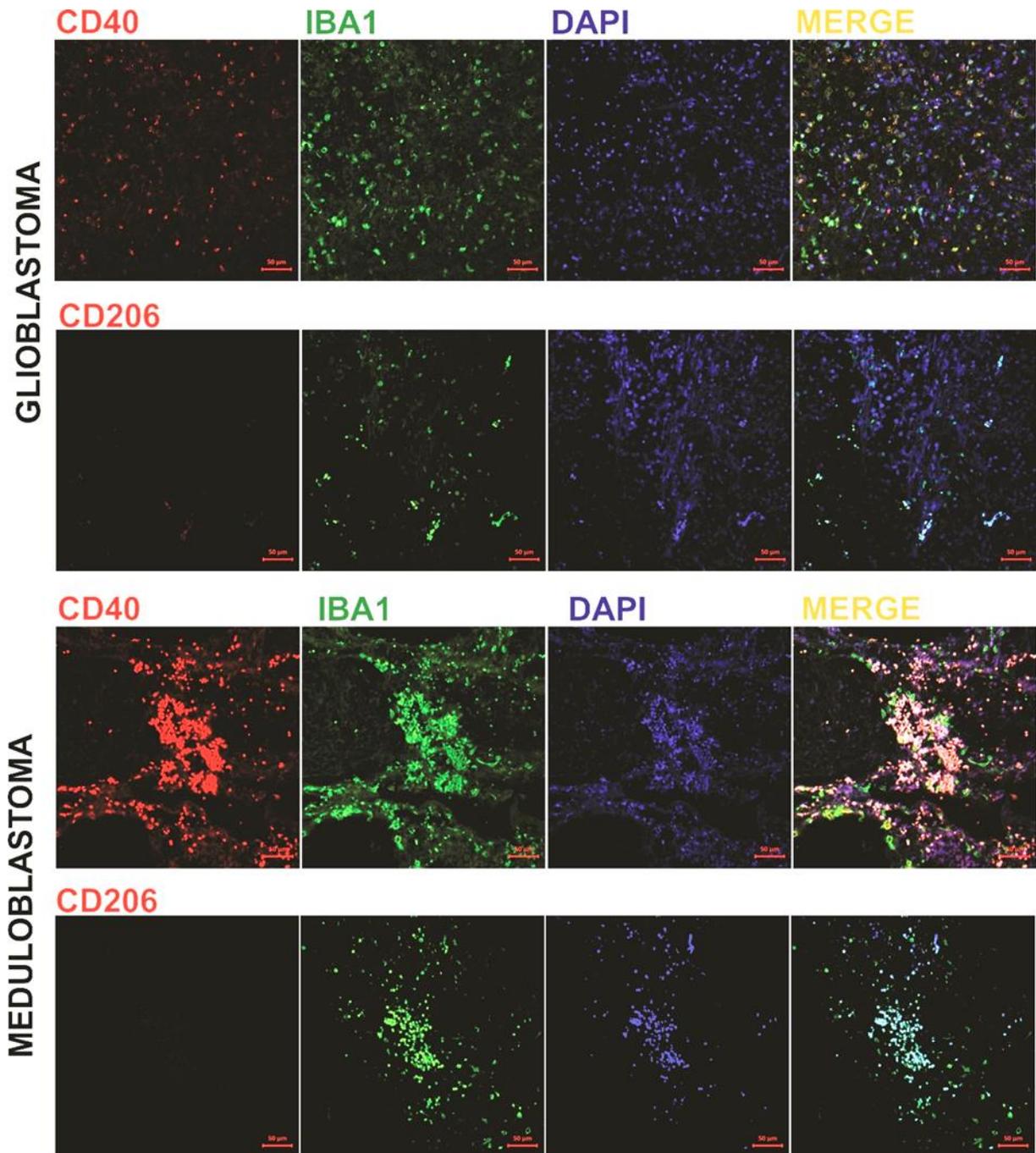
Figura 13 – Paineis de imagens de imunofluorescência de tumores cerebrais pediátricos benignos (astrocitoma e papiloma de plexo coroide) com ênfase no estudo de macrófago/microglia.



CD40 (Alexa flúor 633; vermelho) ou CD206 (Alexa flúor 633; vermelho), IBA1 (Alexa flúor 488; verde) e DAPI (azul). A marcação do DAPI (azul) para células nucleada e co-localização (merge) dos marcadores CD40, IBA1 e DAPI. Acima- astrocitoma e abaixo- papiloma de plexo coroide. CD.: Cluster of Differentiation. IBA1.: ionized calcium-binding adapter molecule 1. DAPI.: 4',6-Diamidino-2'-phenylindole dihydrochloride. Duas primeiras seqüências de imagens de astrocitoma com marcações de CD40 ou CD206 (vermelho), IBA1 (verde), DAPI (azul) e *merge* dos marcadores CD40, IBA1 e DAPI. Duas últimas seqüências de imagens de papiloma de plexo coroide com marcações de CD40 ou CD206 (vermelho), IBA1 (verde), DAPI (azul) e *merge* dos marcadores CD40, IBA1 e DAPI. Ampliação de imagens em 50 µm (objetivas de 40x).

Fonte: próprio autor.

Figura 14 – Pannel de imagens de imunofluorescência de tumores cerebrais pediátricos malignos (glioblastoma e meduloblastoma) com ênfase no estudo de macrófago/micróglia.



CD.: Cluster of Differentiation. IBA1.: ionized calcium-binding adapter molecule 1. DAPI.: 4',6-Diamidino-2'-phenylindole dihydrochloride. Duas primeiras seqüências de imagens de glioblastoma com marcações de CD40 ou CD206 (vermelho), IBA1 (verde), DAPI (azul) e *merge* dos marcadores CD40, IBA1 e DAPI. Duas últimas seqüências de imagens de meduloblastoma com marcações de CD40 ou CD206 (vermelho), IBA1 (verde), DAPI (azul) e *merge* dos marcadores CD40, IBA1 e DAPI. Ampliação de imagens em 50 µm (objetivas de 40x).

Fonte: próprio autor.

9 DISCUSSÃO

Sumarizando os dados apresentados, procurou-se relacionar as respostas imunológicas sistêmica e cerebrais decorrentes da HIC. Analisam-se pacientes com HIC de causas tumorais (benignas e malignas) e não-tumorais. Dos dados interessantes do estudo, observou-se elevação de PCR e leucometria no grupo não-tumoral, e para o grupo tumoral, não se obteve aumentos. Sistemicamente, a IL-10 estava aumentada em todos grupos de hidrocefalia, entretanto, a IL-6 reduziu-se no grupo tumoral benigno e em menor taxa no grupo maligno. A IL-18 do LCR estava aumentada em todos dos grupos de hidrocefalia. No estudo histológico entre tumores benignos e malignos, destacou-se para o grupo maligno o aumento de linfócitos T citotóxicos e células de memória, além da visível polarização M1 dos tumores malignos. Desta forma, nos parágrafos abaixo, discorreremos acerca dos principais pontos do estudo.

Na caracterização clínica dos pacientes, observou-se uma distribuição semelhante dentre os grupos, incluindo o grupo controle. As crianças com hidrocefalia possuíam idade de média de 6 anos para grupo benigno ou 5,8 anos em média para grupo maligno e mais ou menos 4 anos para grupo não-tumoral. Esta observação também foi encontrada nos índices de *Evans* dos pacientes com benignos, malignos e não-tumorais, os valores estavam próximos de 0,47 para as hidrocefalias tumorais e 0,55 para as hidrocefalias não-tumorais. Este índice maior no grupo não-tumoral é evidência de uma situação crônica, uma obstrução de maior duração. No entanto, é reconhecido como um bom parâmetro de diagnóstico de hidrocefalia, o índice de *Evans* acima de 0,3, como observado nos grupos (Shekdar e Schwartz, 2017).

O grupo hidrocefalia tumoral foi dividido em patologia benigna e maligna. Os tumores benignos do estudo (astrocitoma pilocítico grau I, ependimoma grau II, papiloma de plexo coroide, neurocitoma central grau I, e craniofaringioma adamantinomatoso) correspondem aos tumores cerebrais encontrados para idade abaixo de 14 anos, como aqueles encontrados na literatura com característica periventricular e de fossa posterior. Para tumores com característica periventricular ou de fossa posterior, as patologias malignas encontradas no estudo foram meduloblastoma de alto grau, glioblastoma grau IV e pinealoblastoma. Estes tumores malignos também são encontrados, em maior frequência, na literatura. Com relação ao grupo de comparação de hidrocefalia não-tumoral, na sua casuística, é semelhante à literatura pela faixa etária. (Gaitanis e Tarui, 2018), (Rekate, 2009)

Nos grupos com hidrocefalia de nosso estudo, observou-se que a maioria do pacientes do grupo de hidrocefalia não-tumoral possuíam dependência da DVP para manter a

PIC em níveis fisiológicos. Já para o grupo tumoral, procurou-se priorizar pacientes com sintomatologia de HIC, assim selecionaram-se os pacientes mais graves. Contudo, seguiu-se a metodologia almejada no estudo. Nos grupos tumorais, os pacientes realizavam DVP motivada por HIC, e num melhor momento clínico, realizou-se a ressecção tumoral. Após a seleção do grupo tumoral, houve a seleção do grupo não-tumoral. Gerou-se, no grupo não-tumoral, uma seleção de pacientes com características clínicas semelhantes ao grupo tumoral. Assim, o grupo não-tumor possuía ventrículos mais dilatados e as crianças tinham histórico de obstruções não infecciosas anteriores. Como visto na literatura, seria esperado obstruções de *shunts*, em uma taxa de 2 a 4 revisões do sistema valvular dentro um período de 10 anos, a taxa de sobrevivência do sistema estaria próxima a 64% no primeiro ano e uma média de sobrevida de 5 anos, justificando em alguns serviços de neurocirurgia uma reoperação programada. Tal conduta seria observada, principalmente, nos pacientes com etiologia da hidrocefalia por tumor em fossa posterior ou por causas pós-hemorrágicas (Notarianni, Vannemreddy *et al.*, 2009). Já os tumores infratentoriais pediátricos apresentam hidrocefalia em 70 a 90% dos casos no seu diagnóstico e após a ressecção cirúrgica, entre 10 e 40% dos pacientes mantêm o processo de dilatação ventricular e dependência de *shunt*. Para as recomendações atuais, este fato traduz uma ausência de consenso entre os neurocirurgiões, quanto a colocação de derivação ventricular ou a realização da terceiroventriculostomia antes da ressecção tumoral. As opções de derivação antes, durante ou após a ressecção tumoral trazem riscos e benefícios. No entanto, a idade menor, a hidrocefalia moderada a severa e certos tipos tumorais são indicativos para uma maior tendência de obstrução de drenagem crônica do sistema liquórico e dependência do *shunt* (Santos De Oliveira, Barros Jucá *et al.*, 2008). A taxa de complicações da terceiroventriculostomia e do *shunt* vetriculoperitonal pós-ressecção de tumores infratentoriais seriam semelhantes, sendo mais pronunciada na última, em taxa acumulada de 31% (Dewan, Lim *et al.*, 2017). No entanto, no nosso seguimento de 2 anos, observou-se uma taxa de complicação do *shunt* superior aos relatados na literatura. Justifica-se esta maior proporção pela seleção de pacientes mais complicados no nosso estudo.

Pelo número amostral de nossos pacientes que realizaram estudo de seguimento (total de 28 pacientes), não foi possível realizar cálculo formal de sobrevida dos pacientes, mesmo em teste robusto como a análise de regressão de *Cox*. (Ogundimu, Altman *et al.*, 2016). Nem mesmo a curva de sobrevivência de *Kapla-Meier* foi possibilitada (Wynants, Bouwmeester *et al.*, 2015). Por fim, no decorrer dos 2 anos de observação do estudo, foi possível realizar a taxa de mortalidade dos pacientes. Observou-se taxa de mortalidade geral de 28,5%, o grupo de hidrocefalia tumoral maligna foi o responsável por elevar a taxa de

mortalidade geral. Assim, como previsto para o estudo, demonstrou-se a alta letalidade dos tumores cerebrais malignos.

No presente estudo, não havia diferenças significativas nas PIC entre os grupos, nem foi observado grande aumento da PIC, poucos pacientes demonstraram HIC. Como previsto, naqueles pacientes com HIC, observaram-se parâmetros clínicos piores. Entretanto, a assistência clínica e a intervenção cirúrgica produziram redução da pressão intracraniana e certa melhora clínica em geral. O grupo com HIC, com melhor resposta clínica, foi o grupo não-tumoral, visto que foi necessário apenas um dia para a recuperação dos pacientes. Enquanto, o tempo de melhora clínica foi entre três e quatro dias para os grupos tumores. Assim, pode se concluir que a presença tumoral piorava a situação clínica dos pacientes, principalmente, quando possuíam HIC.

Tal fato citado acima é parcialmente verdadeiro. Temos algumas explicações para estas diferenças na recuperação clínica entre os dois grupos. Primeiramente, a avaliação clínica do pediatra era realizada antes da realização de imagens cerebrais e dos exames laboratoriais. Desta forma, havia um tempo entre a indicação cirúrgica do neurocirurgião e a obtenção de imagens. Neste tempo, houve possibilidade de condutas clínicas que estabilizaram os pacientes, e assim foi possível melhorar os parâmetros clínicos. Na literatura, os vários estudos de neuroimagens e novas tecnologias para aferição indireta da PIC apresentam falhas na acurácia. É demonstrado que, nas situações de urgência, os sinais e os sintomas inespecíficos de HIC, além das imagens de tomografia, não necessariamente refletem a PIC verdadeira (Horvat, Mtaweh *et al.*, 2016). No contexto de HIC não-tumoral no nosso estudo, a rápida recuperação clínica seria justificada pela ausência de fatores comprometedores, como infecção, sangramento ou presença tumoral. E no contexto de HIC com presença tumoral, muitas vezes são coincidentes os sinais e os sintomas de HIC e de lesão tumoral cerebral, tornando o assunto controverso (Lin e Riva-Cambrin, 2015). Portanto, a melhor conclusão seria que devemos reservar a derivação para quadros graves, como ocorrido no presente estudo. Além disso, os sinais de alerta de HIC se confundem com os sinais de lesão intracraniana.

Colaborando com as informações acima descritas, as manifestações clínicas também representam um ponto crítico. Elas variam entre os recém-nascidos e lactentes (fontanela aberta), e as crianças maiores (fontanela fechada). Para os primeiros, alguns sinais de alerta não são observados e as manifestações clínicas apresentadas são o abaulamento da fontanela, irritabilidade e outras alterações, como choro fácil e recusa da alimentação, além de macrocefalia. Para as outras crianças, a cefaleia decorre da distensão de estruturas com inervação sensitiva (dura-máter, nervos cranianos e vasos), esta dor é geralmente holocraniana

ou bifrontal. Uma HIC com extrema elevação pode resultar na temida resposta de *Cushing*, que é composta por hipertensão arterial reflexa, bradicardia e alterações do ritmo respiratório. Esta situação muito grave, rapidamente evolui para estado comatoso e óbito, a não ser que a PIC seja rapidamente reduzida com medidas apropriadas (Shimony, Martinez-Sosa *et al.*, 2021). Um fator bastante limitante para o prognóstico da resolução de HIC é a causa da injúria cerebral, como traumas contusos, tumores obstrutivos, sangramento intracerebral ou infecções. Fatores secundários como o tempo de hipoperfusão cerebral, o estado de mal epilético, a presença de edema cerebral, a hipoxemia e outros danos, todos estes contribuem negativamente para recuperação do paciente. (Horvat, Mtaweh *et al.*, 2016)

No contexto dos tumores cerebrais, a própria obstrução do fluxo liquorico já é sinal de gravidade, principalmente associado a edema cerebral. Somando-se estes dois fatos, a convulsão durante o intercurso de HIC e a hipoperfusão cerebral, configuram-se em urgência médica. O tratamento clínico de HIC, independente da etiologia, consiste no uso de corticoides e líquidos osmóticos, em evitar a hipertermia e a convulsão, e na manutenção da homeostase. Estes tratamentos iniciais são fundamentais para a intervenção cirúrgica de diminuição da PIC ou da massa tumoral, quando esta for estudada adequadamente (Wilne, Collier *et al.*, 2007), (Lam, Reddy *et al.*, 2015). Desta forma, é imperioso, em sinais de gravidade, proteger o paciente com alívio da PIC, muitas vezes com cirurgia de urgência de derivação ventricular. No caso de tumores cerebrais, é necessário aguardar o melhor momento da ressecção tumoral através de bom estudo do paciente. Este estaria em melhores condições clínicas e cirúrgicas com resolução da hipoperfusão, do edema e da pressão cerebral.

No presente estudo, observou-se que os valores de PCR estavam elevados (valor de referência de 5 mg/L) em poucos pacientes dos grupos tumorais e em maior proporção nos pacientes não-tumorais. Para valores absolutos, o grupo com HIC não-tumoral possuía valores superiores aos grupos tumorais. Já para leucometria, não houve diferença entre os grupos, e os valores estavam próximos dos limites de normalidade para o primeiro insulto. Analisando os valores de proteína C reativa e de leucometria, os grupos tumorais pareceram ter resposta ao estresse amortecida para a hipertensão intracraniana, comparados aos pacientes com HIC não-tumoral. E este efeito imunomodulador não foi efetivo ao estresse para cirurgia de maior porte, a ressecção tumoral, pois ambos os grupos tumorais possuíam valores aumentados na situação de pós-ressecção tumoral comparado à situação de HIC.

Os dados da literatura indicam que a leucometria e a proteína C reativa seriam fatores inespecíficos de inflamação e de infecção. Diversos agentes estressores modificam seus valores. Nos adultos, observa-se que a intensidade de aumento de PCR depende do sítio

cirúrgico e o nível de estresse. E a contagem de leucócitos também segue uma imprevisibilidade. Normalmente, para leucometria, há a contagem de leucócitos e seu diferencial, possibilitando mobilizar alguns diagnósticos diferenciais para seu aumento. Enquanto para os valores aumentados de PCR, existem limitações maiores, em sua interpretação, é necessário uma conjunção de fatores. Esta proteína de fase aguda, possui grande utilidade clínica, pois se eleva rapidamente dentro de 4 horas do insulto inflamatório (infecções, necroses, doenças malignas, queimaduras, cirurgias, traumas, estresse e doenças inflamatórias). Sabemos que sua meia-vida é de apenas 4 a 10 horas, portanto, retornará a níveis basais após resolução do processo desencadeante. O principal estímulo para sua produção é a ativação dos macrófagos produzindo interleucina 6, o que induz a síntese hepática de PCR, e a IL-1 β e o TNF- α ficam como fatores sinérgicos. Para os novos métodos de quantificação, a maioria dos laboratórios considera níveis séricos abaixo de 2 mg/L para indivíduos saudáveis, e níveis acima de 10 mg/L indicam algum processo inflamatório em atividade. No acompanhamento do pós-operatório de adultos, incluindo cirurgias maiores e menores da especialidade da neurocirurgia e comparando a outras especialidades cirúrgicas, observa-se que a PCR aumenta progressivamente até terceiro dia de pós-operatório, e decai, em situações normais, algumas vezes normalizando até o trigésimo dia. É observado que valores maiores de 130 mg/L, após sexto dia de cirurgia, apresentam alta probabilidade de infecção (Al-Jabi e El-Shawarby, 2010). Para os cânceres em adultos, a PCR elevada pode indicar um mal prognóstico de tumores abdominais, torácicas e linfomas. (Heikkilä, Ebrahim *et al.*, 2007)

Especificamente para neonatologia, na resposta do estresse cirúrgico, é sabido que o aumento de PCR e interleucina-6 séricas são menos previsíveis comparado aos adultos. E no estudo dos leucócitos no sague, há certa tendência de redução e de modificação do seu diferencial, tornando o assunto bastante controverso, especialmente na ausência de infecção (Pavcnik-Arnol, Bonac *et al.*, 2010). Já nas crianças maiores, é prevista uma resposta ao estresse de aumento da PCR, decorrente da liberação de IL-6, e de leucocitose, ambos dependentes de estresse. Como ocorrência comum, para maioria das faixas etárias, os altos níveis continuados destes fatores, que são prognósticos para uma infecção subjacente. (Neunhoeffler, Plinke *et al.*, 2016). Pode-se observar que o estresse cirúrgico, na cirurgia pediátrica em geral, possuiu respostas bastante variadas, principalmente, na neonatologia.

Também na literatura, focando para neuropediatria, os valores de PCR e de leucometria estão associados à previsão de infecção, principalmente, na infecção de derivações ventriculares de pacientes com hidrocefalia. Estes elevados valores, associados a outros elementos clínicos e laboratoriais, têm alta sensibilidade e média especificidade para infecção

de *shunt* (Lolak e Bunyaratavej, 2013). Num estudo de crianças dependentes de hidrocefalia de diversas causas, incluindo tumoral, conduzido por Schuhmann e colaboradores em 2005, no qual advogaram que a PCR, em valores abaixo de 7 mg/L, teria baixa probabilidade de infecção. O grupo controle, sem infecção posterior, era composto por pacientes com mau funcionamento de derivações. Mesmo nestes pacientes controles, observaram-se altos valores, acima de 100 mg/L, deste marcador sérico, justificado por descompensação orgânica e de resposta inflamatória sistêmica (Schuhmann, Ostrowski *et al.*, 2005). Na literatura neuropediátrica não-infecciosa, carecem-se de estudos dos fatores desencadeadores de insulto cerebral agudo e marcadores de resposta sistêmica. Os estudos da proteína C reativa e dos leucócitos de sangue periférico não refletem, em tempo real, as alterações em resposta aos insultos de HIC nos pacientes com hidrocefalia primária ou secundária. Como perspectivas para marcadores séricos, ainda estão em andamento para uso de diagnóstico ou de prognóstico clínico, cita-se alguns: caspase 3, citocromo C, NSE, UCH-L1, S100- β , GFAP, MBP, neurofilamento de cadeia leve e ferritina. (Prout, Wolf *et al.*, 2017)

Para os nossos grupos tumorais, observamos um fenômeno diferenciado. No primeiro estresse sistêmico de HIC, foi observada pequena elevação de PCR e uma leucometria relativamente dentro das referências. Uma vez aliviada a obstrução e o tempo decorrido para melhora do paciente, estimou-se retorno a níveis basais. Neste grupo tumoral, os pacientes receberam um novo estresse, no caso a ressecção tumoral. Eles apresentam os valores de PCR e de leucometria que suplantaram ao estresse anterior, observando-se valores bastante elevados. Dos dados analisados no estudo, a leucometria, do grupo benigno, demonstrou uma elevação mais significativa para os dois momentos: pré-derivação e pós-resseção tumoral. Num achado da literatura em adultos de insulto sistêmico de neurocirurgias, foi observada a cinética de elevação aguda destes fatores durante o pós-operatório. A evolução laboratorial foi semelhante ao nosso estudo (Sharouf, Hussain *et al.*, 2020). Em outros dois estudos em cirurgia pediátrica de porte maior incluindo neurocirurgia, observou-se elevação dos níveis de leucócitos e, principalmente, da PCR. Esta teve valores mais elevados que os nossos valores no pós-operatório de ressecção tumoral. Nos estudos referenciados, o pico sustentado de PCR e, presumindo, uma também elevada IL-6 ocorreram em oportunidade para infecção e sepse. Contudo, na síndrome de resposta inflamatória sistêmica não resolvida, é provável uma infecção oportunista por imunossupressão. Este conjunto levará o organismo à sepse (Laporta Baez, Palomero Rodriguez *et al.*, 2011), (Sariego-Jamardo, Rey *et al.*, 2017). Especificamente para os tumores cerebrais pediátricos, na contagem de leucócitos e de seu diferencial pré-operatórios, existe uma relação para um pior prognóstico histológico. A divisão, entre a

contagem de neutrófilos e de linfócitos em sangue periférico, prediz uma tumoração maligna. Este fato é justificada pela influência tumoral na resposta imune do indivíduo, mesmo o SNC sendo considerado, por muitos, um local de sistema imune privilegiado (Wilson, Saeed *et al.*, 2018). Desta forma, é observado que tanto a PCR como a leucometria junto com seu diferencial, apontam informações importantes para a resposta ao estresse sistêmico.

Durante a avaliação simultânea de citocinas líquóricas e plasmáticas, teríamos um boa oportunidade para observar os insultos cerebrais e suas consequências sistêmicas. O presente estudo utilizou-se desta estratégia, e assim, foram comparadas as mesmas citocinas no LCR e no plasma. Foram avaliadas duas citocinas pró-inflamatórias (IL-18 e IL-33), uma anti-inflamatória (IL-10) e uma com característica dual, pró e anti-inflamatórias, (IL-6). Como observado na literatura, as quatro citocinas estudadas possuem papéis recentemente descobertos na atuação da neuropediatria. Especula-se trazer novas informações da injúria da HIC dentro do contexto de hidrocefalia independente da causa. Da parte pró-inflamatória, procurou-se escolher pró-inflamatórias que possuíam ações e regulações um pouco distintas da IL-1 alfa, da IL-1 beta e do TNF-alfa. A citocina anti-inflamatória, IL-10, poderia demonstrar, no líquido ou no plasma, a regulação contra o excesso de inflamação. Já a citocina dual, IL-6, apontaria um outro ponto de vista da inflamação. Sabe-se que seu mecanismo de ação é diferente da superfamília IL-1, entretanto, apresenta inibição pelas citocinas anti-inflamatórias. A IL-6 possui ações pró e anti-inflamatórias dependendo da interação com seu receptor (Pranzatelli, 2018). Portanto, a análise destas substâncias, no LCR e no plasma, seria de grande valia para nosso estudo.

Nos resultados de valores plasmáticos de interleucinas do presente estudo, observou-se uma supressão sérica da IL-6, no grupo hidrocefalia tumoral, frente ao estresse duplo de presença de tumor cerebral e hipertensão intracraniana. Este fenômeno ocorreu com diferença estatisticamente significativa quando foi comparado o grupo tumoral benigno aos grupos controle e não-tumoral. O grupo com hidrocefalia tumoral maligna possuía valores de IL-6 plasmáticos inferiores, sem alteração estatística, para os grupos controles e não-tumoral. Dentro do grupo tumoral para a IL-6, houve valores relativamente inferiores para o grupo benigno. Para a interleucina anti-inflamatória (IL-10), os grupos benigno, maligno e não-tumoral apresentaram valores elevados quando comparados aos controles. Ademais, as outras interleucinas pró-inflamatórias, IL-18 e IL-33, não demonstraram alterações entre os grupos. Observou-se, sistemicamente, o fenômeno de imunossupressão mais pronunciado para o grupo tumoral benigno. Nos achados da literatura, é ponderável o papel da IL-10 sistêmica realizando uma inibição da IL-6. Nos modelos de neurotrauma em humanos e em animais, é sustentado

este fenômeno. A IL-10 sistemicamente ou no tecido injuriado tem papel protetor anti-inflamatório (Thompson, Zurko *et al.*, 2013). Entretanto, seria prematuro apontar o exato mecanismo que os tumores benignos teriam maior influência na imunossupressão sistêmica.

No LCR, os valores de citocinas foram observados mediante HIC e/ou a presença tumoral com aumentos significativos de IL-18 nos grupos de hidrocefalia tumoral (benigno e maligno) e não-tumoral, comparados aos controles, e sem diferenças entre os grupos citados. As demais citocinas a nível liquórico, não tiveram alterações. Não foram observadas correlações clínicas ou laboratoriais com citocinas avaliadas para os grupos tumorais. Entretanto, para o grupo não-tumoral, houve correlação positiva entre a IL-33 liquórica e a PCR, também houve outra correlação positiva entre IL-18 liquórica e a leucometria. Infelizmente, estas correlações foram fracas e não tiveram impacto clinicamente significativo. Fundamentando a observação que IL-18 elevou-se na HIC independente da causa, observa-se tal achado em vários cenários de injúria aguda no SNC (infecção, trauma, isquemia ou tumores). A IL-18 liquórica teria implicações nos mecanismos inflamatórios e seria potencial marcador de injúria aguda do SNC (Mortezaei, Khanlarkhani *et al.*, 2018). A injúria cerebral aguda, como a HIC, tem implicações na ativação da resposta sistêmica. No entanto, para os nossos grupos de hidrocefalia tumoral, observou-se atenuação da resposta sistêmica. Na literatura, carece-se de um mecanismo pontual. Todavia, é proferido que os tumores em geral estão relacionados a inflamação crônica. Desta forma, poderia, parcialmente, explicar a IL-10 plasmática elevada e tendência de redução da IL-6.

Guardando as devidas proporções, tanto o grupo tumoral como o não-tumoral tiveram ativação crônica e contínua do sistema imune decorrente das lesões. Ambas as situações possuem um padrão de inflamação crônica. Os modelos, para a hidrocefalia crônica, estudados, foram dois: um modelo foi disfunção da própria derivação (pacientes dependentes de *shunt* para manter o equilíbrio da PIC), e outro foi o aumento gradual e progressivo da retenção liquórica (pacientes que não possuíam derivação prévia). Nos dois modelos citados, as alterações dos tecidos cerebrais, como neurônios, astrócitos, oligodendrócitos, células coronais, as granulações aracnoides, micróglias e células progenitoras, todas estão reguladas para o tipo crônico após insultos agudos. A hipoperfusão, a HIC e a reparação tecidual também estão relacionados a esses dois modelos, influenciando o estado crônico seguido de agudização. Diferentemente da neoplasia, as alterações histológicas citadas na hidrocefalia crônica estão distribuídas no encéfalo e, uma vez reativadas por HIC, é refletida por todo encéfalo (Strahle, Garton *et al.*, 2012).

Outra resposta clássica ocorre entre o sistema imune e o tumor cerebral. Também é considerado um padrão especial de inflamação crônica. Desde as observações de Virchow (século XIX) acerca da hipótese de que o câncer pode resultar num estado de inflamação crônica, inúmeros modelos e observações vêm confirmar o fato. De modo geral, a inflamação aguda contribui para a regressão tumoral, enquanto a inflamação crônica promove sua progressão. Para a supressão da inflamação associada à tumorigênese, é necessária a manutenção do balanço das citocinas pró e anti-inflamatória. São postulados dois paradigmas que integram a relação câncer e inflamação, a via intrínseca e a via extrínseca. A inapropriada expressão gênica é consequência do dano genético, da instabilidade cromossômica e de alterações epigenéticas, indicando uma via intrínseca. Já a via extrínseca é associada a sinais inflamatórios por infecções ou doenças autoimunes. (Grivennikov, Greten *et al.*, 2010)

O resultado final destas vias é a ativação de importantes fatores transcriptores no núcleo, como NF- κ B e STAT3. Estes fatores são fundamentais para a cascata inflamatória. É proferido que as citocinas pró-inflamatórias levam a proliferação celular, a evasão apoptótica, a invasão e às metástases e angiogênese. A inflamação também desregula as quinases como a JAK (*Janusquinase*) e MAPKs, a adição destes fatores ao HIF-1 α (factor-1 α indutivo por hipóxia) são implicados na oncogênese. (Dinarello, 2018)

As citocinas também estão num papel central destes fenômenos, onde são observadas a nível intratumoral a IL-12 alta e IL-10 baixa. Junto a isso, ainda há a produção de radicais livres e ativação de macrófagos, assim, perpetuando o dano do material genético do tumor. Para responder a tais situações, o sistema imune reverte estas características, conseqüentemente, é observada a mudança de diminuição de IL-12 e aumento de IL-10, e a adaptação da ativação dos macrófagos. O aumento da IL-10, uma citocina anti-inflamatória, é um dos marcos da imunossupressão tumoral. Esta citocina é responsável pelo fino balanço entre as citocinas pró e anti-inflamatórias, em estados patológicos crônicos. No nosso estudo observamos os níveis plasmáticos da IL-10 que estavam aumentado em todos os grupos com hidrocefalia, indicando que essa situação correlaciona-se mais com um estado inflamatório crônico decorrente da hidrocefalia e não essencialmente do perfil oncológico. Já a dosagem de IL-6 se mostrou mais baixa em pacientes com tumores do que em pacientes com a hidrocefalia não-tumoral. Um resultado interessante, já que IL-6 tem uma capacidade dual num cenário de inflamação. Na sua sinalização clássica, a IL-6 liga-se a tríade de duas transmembrânicas proteínas gp130 e do receptor de IL-6, este complexo intracelularmente a JAK, STAT, MAPKs, dentre outros. De forma fisiológica e desencadeada pelas metaloproteases (ADAM10 e ADAM17), o receptor IL-6 é clivado e solubilizado para o meio. Na ligação entre a IL-6 e o

receptor IL-6 solúvel, extra-celularmente, forma-se a hiper IL-6. Esta é a base para o sinal alternativo, ou transsinalização. A hiper IL-6 se liga a dupla proteína gp130, estas terão ações de inflamação crônica e recrutamento de monócitos. Numa ação de ligação via receptor de IL-6 de membrana com ação anti-inflamatória, é esperada a proliferação celular e inibição de apoptose. Entretanto, na ligação de receptor de IL-6 solúvel, pode ser observada a ação pró-inflamatória com ativação do sistema imune. Em casos de distúrbios agudos, produziria um papel antitumoral. Em outras situações na relação tumorais como sistema imune, seu papel em longo prazo implica em mau prognóstico, visto a capacidade da IL-6 em auxiliar os tumores no crescimento, na invasão e nas metástases. Estas ações estão relacionadas aos fatores de transcrição acima citados. (Scheller, Chalaris *et al.*, 2011)

Concatenando os dados referentes a IL-10 e IL-6 observa-se um fenômeno sugestivo de supressão do sistema imune, principalmente, para o grupo de tumores benignos em que a interleucina 10 aparece aumentada, e a interleucina 6 em valores menores comparados ao grupo controle. O grupo hidrocefalia tumoral maligna teve uma tendência a semelhar-se ao grupo benigno, com a IL-10 elevada e IL-6 em valores inferiores ao controle. No grupo não-tumoral a IL-10 apresentou valores superiores ao controle, apesar dos elevados valores de PCR, sugerindo que a presença tumoral possa estar por trás da supressão da resposta inflamatória sistêmica.

No modelo de injúrias no SNC, como isquemias, hemorragias, ou traumas, a IL-10 sérica elevada demonstrou um pior prognóstico em vários estudos clínicos de dano cerebral, tendo alguns outros estudos com pouca correlação no prognóstico. Esta elevação pode ser iniciadora de uma infecção pelo estado de imunossupressão ou indicadora de uma lesão mais extensa. A IL-10 limita as citocinas pró-inflamatórias nos modelos de dano cerebral, onde na sua ausência, observa-se a elevação de IL-6 sérica e líquórica que é indicativo de má-recuperação de trauma cerebral (Garcia, Stillings *et al.*, 2017). Na literatura, apenas modelos em animais demonstram a aferição simultânea tanto sérica e como tecido cerebral para a IL-10 e IL-6, vistos em modelos de hipóxia cerebral neonatal e de contusão cerebral. No primeiro modelo de hipóxia neonatal, o conjunto de IL-6 e IL-10, sérico e cerebral apresentaram aumento precoce, normalizando no sétimo dia pós-isquemia (Li, Liu *et al.*, 2014). No modelo de contusão cerebral, não foram observadas alterações séricas agudas, porém houve aumento simultâneo de IL-6 e IL-10 teciduais e boa resposta de redução de citocinas cerebrais após administração do fator VII recombinante (Solomon, Kim *et al.*, 2011). E finalmente num estudo animal neonatal crônico, observou-se que; após o insulto isquêmico, no período de recuperação encefálica, os ratos sobreviventes apresentavam níveis séricos aumentados de TNF-alfa e IL-

10 enquanto que no tecido cerebral, as micróglias apresentavam polarização M2 (Orrock, Panchapakesan *et al.*, 2016).

Para tumores cerebrais benignos em pediatria, num estudo específico para a ação da IL-6 e da via STAT3 na análise do tecido tumoral de ependimomas, observou-se, numa população de 20 pacientes, uma maior expressão de IL-6 neste tipo tumoral. Os autores presumiram que as respostas pró-inflamatórias viabilizaram o crescimento tumoral (Griesinger, Josephson *et al.*, 2015). Resposta semelhante foi encontrada em outro estudo pediátrico de craniofaringiomas quanto à expressão tumoral de IL-6 e IL-8, numa população acima de 100 pacientes. Houve correlação da expressão de IL-6 de tipos histológicos mais agressivos e menor taxa de sobrevivência (Peng, Yang *et al.*, 2020). Já em estudos com tumores malignos, numa série de dez pacientes pediátricos acometidos de meduloblastoma de várias classes, divididas segundo os critérios da WHO de 2016, observou-se a supra expressão tumoral as duas interleucinas anteriormente citadas (IL-6 e IL-8), tanto no tecido tumoral como no líquido (Low, Bte Syed Sulaiman *et al.*, 2020). Em outro estudo mesclando tumores benignos e malignos (incluindo meduloblastoma, glioma de alto e baixo grau, sarcoma, ependimoma, e astrocitoma pilocítico), totalizando 45 pacientes nos grupos tumorais, foi analisado o plasma destes pacientes em painel de várias citocinas no momento pré-operatório e, para alguns grupos, no seguimento de tratamento tumoral. Observou-se que a IL-10 que se encontrava aumentada e TNF-alfa diminuída em vários grupos tumorais. Fato interessante ocorreu após ressecção de meduloblastomas, a IL-6 sérica declinou no decorrer do tratamento, ficando com níveis séricos próximos aos controles. Para este tumor, foi encontrado o seguinte padrão sérico pós-ressecção: VEGFA (fator de crescimento vascular endotelial) aumentado, IL-7 aumentada, IL-17 baixa, TNF-beta baixa (Sandén, Enríquez Pérez *et al.*, 2016). Já num estudo de tratamento radioterápico de tumores cerebrais em pediatria com N= 83 participantes (incluindo meduloblastoma, glioma, tumor de células germinativas e tumores embriológicos), o foco deste estudo foram os níveis séricos de IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN-gama e IL-17 durante o tratamento adjuvante. Nas respostas após 4 semanas de tratamento, observou-se redução de níveis séricos de IL-6 e IL-10, sendo a resposta mais pronunciada para o meduloblastoma e o tumor de células germinativas com doença residual. Em regime de irradiação cranioespinhal, estes dois últimos tumores apresentaram redução no estudo de imagens. Os autores sugeriram que a IL-6 e a IL-10 poderia ser marcadores de resposta, entretanto, necessitariam de estudos mais extensos. (Song, Wang *et al.*, 2021)

Quando avaliamos o papel da interleucina 18 e a interleucina 33 nesse cenário, não foi possível mostrar alterações no plasma derivadas da presença tumoral ou estresse sistêmico.

Na literatura essas citocinas são consideradas relativamente recentes, comparadas aos estudos da IL-6 e IL-10, na relação de inflamação crônica e câncer. Estas interleucinas fazem parte da super família IL-1, incluindo IL-37 e IL-38. Nos mecanismos de ação, estão envolvidos os TLRs, a proteína de adaptação MyD88 (relacionada ao gene de resposta primária de diferenciação 88), as quinases IRAKs (quinases associados ao receptor IL-1), TRAF6 (receptor TNF associação do fator 6). O mecanismo adicionalmente inclui a ativação de NFκB, JAK, MAPKs, AP-1 (proteína ativadora-1), receptores do interferon. Genericamente, a IL-1 e a IL-18 necessitam ser ativadas pelo NLRP3 inflamasoma, e este último é dependente de estímulos nócicos oriundos de PAMPs (padrão de moléculas associados ao patógenos) ou DAMPs (padrão de moléculas associado ao dano). Existe também o mecanismo ampliador pró-inflamatório e sinalizador de morte celular pela caspase. A IL-18 induz a resposta tipo 1 inata e adaptativa dos linfócitos, enquanto a IL-33 seria importante para a resposta tipo 2, modulando a polarização M2 dos macrófagos e reparo tecidual. Com relação ao papel nas neoplasias, a IL-18 teria efeito tumoricida e a IL-33 promove o tumor. No entanto, ambas citocinas têm achados clínicos conflitantes, algumas vezes promovendo ação tumoral, outras combatendo o tumor. (Mantovani, Dinarello *et al.*, 2019)

A análise das citocinas do LCR do presente estudo mostra a interleucina 18 aumentada tanto na hidrocefalia tumoral como na não-tumoral, quando comparados aos pacientes controles. Esse dado sugere uma ativação pró-inflamatória pela presença estresse ao SNC pela obstrução do fluxo liquórico. Na análise da imunologia tumoral, apesar da franca polarização M1 do grupo tumoral maligno e do seu pior prognóstico, este fato não refletiu nas alterações imunológicas sistêmicas para o estresse de hipertensão intracraniana, a exemplo o resultado para a IL-18.

A família da IL-1, que inclui a IL-18 e a IL-33, tem papel neuroprotetivo para injúrias cerebrais em modelos animais, e nos modelos clínicos, suas alterações possuem prognósticos conflitantes (Rodney, Osier *et al.*, 2018). A IL-18 do LCR, em estudos pediátricos e animais de hidrocefalia grave, demonstra elevação de seus níveis em situações de danos ao tecido cerebral. Observa-se que os estudos mais importantes estão concentrados em população de hidrocefalia pós-hemorragica e idiopática (Lolansen, Rostgaard *et al.*, 2021). De forma genérica, para mecanismos de isquemia, hemorragia, trauma ou tumor cerebral, o aumento da IL-18 no líquido ou no tecido cerebral indicam ativação do inflamasoma e outras cascatas moleculares. Observa-se ação das citocinas pró-inflamatórias na caspase, e nos mecanismos de transcriptores, como o NFκB, estes promovendo crescimento tumoral de ependimomas e meduloblastomas. (Zhou, Shi *et al.*, 2016; Van De Stolpe, Holtzer *et al.*, 2019)

Encontram-se escassos na literatura, os estudos pediátricos do papel da IL-33 na hidrocefalia sintomática, no trauma cerebral e nos tumores primários mais prevalentes. Num estudo observacional de trauma crânio-encefálico em adultos com população acima de 200 participantes, os valores séricos altos de IL-33 demonstraram mau prognóstico destes pacientes (Zhang, Li *et al.*, 2019). Em modelos de tumores cerebrais, a IL-33 possui ações contraditórias na orquestração de promoção ou de retardo no desenvolvimento tumoral. Este efeito é envolvido pela ação dupla de indução de resposta Th1 ou Th2, a primeira com ação antitumoral e a última pró-tumoral. Num estudo conduzido em glioblastoma de amostras humanas e animais, a IL-33 teve ação pró-conversão de macrófagos/micróglias em M2 e linfócitos para respostas Th2, indicando ação pró-tumoral (De Boeck, Ahn *et al.*, 2020; Zhang, Chen *et al.*, 2020).

Após a análise das implicações destas citocinas no SNC e organismo, nos modelos demonstrados no estudo (HIC e associação com tumores cerebrais), é necessário focar nos achados histológicos nos tumores estudados e o modelo teórico das lesões de hidrocefalia crônica. O modelo teórico da hidrocefalia não-tumoral, embasado na literatura, seria composto de alterações das células do plexo coroide, micróglias em diversas regiões cerebrais na polarização M2, ativação e migração dos macrófagos para o SNC, gliose das regiões subventriculares, e presença de linfócitos de memória (Supramaniam, Vontell *et al.*, 2013). Essa situação é hipotética, visto a impossibilidade de coleta de material para tal resposta, mas nos situa dentro do contexto para comparação com o grupo dos pacientes oncológicos. Entretanto, nos estudos realizados nos tumores cerebrais, o material analisado nos permite discutir os achados diferenciando tumores malignos e benignos. Quando analisamos os TAMs, quantificação de macrófagos/micróglias não teve diferenças entre os tipos tumores, visto pela presença de marcação IBA1 e CD68. Com os marcadores CD40 e CD206 pudemos observar que os tumores malignos tiveram tipicamente uma polarização M1, e também uma forte expressão de macrófagos ativados para a atividade fagocítica, observado em algumas amostras. Os tumores benignos não conferiram tendência para polarização, pois a razão, entre o marcador para M1 e M2, estava de forma equilibrada próxima de 1. Contrastando, com as informações na literatura sobre polarização das micróglias para tumores malignos, são observados variações de fenótipos destas células. Outros autores, que estudaram meduloblastoma, glioblastoma, dentre outros tumores malignos, demonstram variações de respostas M1 e M2 (Lee, Lee *et al.*, 2018; Pires-Afonso, Niclou *et al.*, 2020). Enquanto, para os tumores benignos, demonstra-se escasso, na literatura de tumores pediátricos, o estudo de polarização das micróglias. Assim, são necessários maiores estudos neste tema.

Perfilando o estudo dos TILs como as células marcadas para CD4 (linfócitos auxiliares) e para CD8 (linfócitos citotóxicos), observaram-se diferenças apenas no estudo do CD8, no qual os tumores malignos demonstravam maior quantidade de linfócitos citotóxicos que os tumores benignos. Outra observação interessante foi com relação aos linfócitos T de memória (marcados com CD45RO) que estavam aumentados nos tumores malignos. Nos estudos em tumores cerebrais em adultos, como em glioblastoma, observa-se uma maior infiltração de linfócitos T e outras células imunes. Esta maior infiltração de células imunes estava implicada num pior prognóstico aos pacientes. Entretanto, observou-se, que a pioria da sobrevida, não se relaciona com os marcadores estudados (Martinez-Lage, Lynch *et al.*, 2019). Desta forma, nos tumores malignos de nosso estudo, a maior incidência de linfócitos e células de memória também indicou pior prognóstico dos pacientes.

Nos estudos histológicos da literatura encontra-se pouca relevância clínica a respeito dos linfócitos e macrófagos/micróglia associados aos tumores benignos. Apenas, em situações específicas como, os tumores inacessíveis para ressecção cirúrgica, as ressecções parciais e tumores benignos de maior grau de agressividade têm estudos de TAM e TIL com maior relevância. Para o craniofaringioma adamantinomatoso num estudo de população adulta, observou-se que os tumores recorrentes apresentavam polarização de macrófagos/micróglia M2 e linfócitos T citotóxicos em maior quantidade. Neste estudo não foi analisado o perfil das citocinas expressas no tumor, porém entende-se que as células de suporte do tumor facilitaram a progressão tumoral (Lin, Wang *et al.*, 2019). Num estudo pediátrico, os tumores benignos e malignos (astrocitoma e meduloblastoma, respectivamente) foram comparados quanto o comportamento de TIL, a infiltração de monócitos e a apoptose tumoral. Foi observada a mesma proporção de linfócitos, entretanto, os monócitos estavam mais prevalentes nos meduloblastomas, e houve maior apoptose para os astrocitomas. A relação dos linfócitos e dos monócitos foi qualitativamente pior para os astrocitomas, pois havia maior necrose e apoptose celular para os tumores benignos, enquanto os meduloblastomas tiveram as células imunes apresentando menor reatividade (Bodey, Bodey *et al.*, 2001). Dessa forma, percebe-se a ausência de uma padronização de polarização para tumores benignos e malignos.

Lin e colaboradores conduziram um estudo de glioma pontino intrínseco, difuso em adultos e crianças, este tumor apresenta um mau prognóstico por sua localização e por seu tipo histológico. Eles correlacionaram no tecido cerebral à histologia das células imunes e a expressão tecidual de citocinas inflamatórias. Observaram na população pediátrica, resultados opostos aos adultos, observam pouca infiltração de linfócitos e ausência de polarização. A quantificação de células imunes era semelhante ao tecido do cerebral normal, e as citocinas pró-

inflamatórias expressas no tumor eram de pequena monta. Estes achados quebram o paradigma de clássica polarização M1 com atividade antitumoral e M2 para atividade pró-tumoral (Lin, Nagaraja *et al.*, 2018). Dados contraditórios também são encontrados no meduloblastomas, os autores Wiegering e colaboradores, em 2011, observaram que a indução para resposta Th1 estava relacionada aos pacientes de melhor prognóstico (Wiegering, Eyrich *et al.*, 2011). Enquanto os autores Lee e colaboradores observaram para o subgrupo SHH de meduloblastomas de polarização M1 um pior prognóstico (Lee, Lee *et al.*, 2018). Os conhecimentos sobre o escape imune, estudados nos modelos animais e clínicos do glioblastoma multiforme do adulto, foram utilizados nos meduloblastomas infantis (Pires-Afonso, Niclou *et al.*, 2020). É esperada baixa resposta imune destes tumores em adultos, e baixa expressão de citocinas inflamatórias, porém uma grande invasão de macrófagos sem resposta antitumoral. Durante a avaliação dos meduloblastomas, em 19 pacientes pediátricos, observou-se menor infiltração de linfócitos, e a apoptose celular estava inibida, apenas o subtipo SHH possuía maior ativação de macrófagos/micróglias. As citocinas do tecido tumoral eram pouco expressas comparadas aos glioblastomas de adultos. Em contraste aos adultos, estes tumores malignos infantis possuíam um microambiente não-inflamatório mais pronunciado e não recrutavam tantas células imunes. (Diao, Gu *et al.*, 2020). Entende-se, portanto que tumores pediátricos malignos são menos imunologicamente reativos comparados aos benignos e aos tumores cerebrais da população adulta.

Através dos conhecimentos observados na população pediátrica, podemos avaliar que o mecanismo de resposta imune de etiologias distintas como hidrocefalia crônica e obstrutiva e hidrocefalia obstrutiva de tumores cerebrais benignos e malignos e com HIC apresentaram variações. Para os tumores benignos, observa-se a atenuação da resposta sistêmica frente ao quadro de presença tumoral e retenção liquórica. Nesse sentido, a citocina anti-inflamatória IL-10 aumentada possivelmente diminuiu a citocina pró-inflamatória (IL-6). Nos tumores malignos essa diminuição da IL-6 foi menos pronunciada combinando com uma menor alteração da proteína C reativa no momento de HIC. A IL-10 elevada na hidrocefalia não-tumoral sugere um caráter crônico da patologia, entretanto, a PCR acusou resposta aguda a HIC através de sua elevação de valores. A observação de injúria cerebral também é justificada pelos níveis elevados de IL-18 nos pacientes com hidrocefalia independente da causa, como é observado nos modelos de hipertensão intracraniana em pós-hemorragias, obstruções críticas e infecções. Estes achados de citocina anti-inflamatória na resposta sistêmica e citocina pró-inflamatória liquórica não condizem com o modelo de inflamação crônica tecidual estimada para a hidrocefalia não-tumoral.

O estudo histológico dos tumores benignos colaborou na justificativa deste fenômeno. Observou-se respostas simultâneas dos macrófagos/micróglias tanto pró como anti-inflamatórias, sendo que a polarização tumoral M1 ou M2 não tem uma relação preditiva específica para resposta imune pró ou anti-inflamatória. No estudo dos tumores malignos houve a polarização M1, maior prevalência de linfócitos T citotóxicos e células T de memória, comparadas aos tumores benignos. Esses achados não tiveram relação com a resposta imune sistêmica esperada. Nos tumores malignos, acredita-se na existência de um microambiente tumoral não-inflamatório, já bem observado em meduloblastomas e gliomas infantis. Para tumores malignos, existe a comprovação que há maiores variações de subtipos de micróglias espalhadas pelo encéfalo, não apenas as micróglias limitadas ao tumor (Szulzewsky, Pelz *et al.*, 2015). Observando o segundo insulto de ressecção tumoral, a influência anti-inflamatória é limitada, o que é sugerido pelo aumento de PCR e da leucometria. Adicionalmente, no seguimento dos pacientes, como esperado, a agressividade tumoral foi motivo de pior prognóstico em tumores malignos e as complicações relacionadas a obstruções de *shunts* ventriculares tiveram grande prevalência para todos os grupos, vista a gravidade dos casos estudados.

Como limitações do estudo apresentado, a variação dos tipos de hidrocefalia e dos tipos histológicos tumorais foi muito ampla e a população do estudo foi limitada. Ocorreu impossibilidade de biopsias dos tecidos cerebrais das hidrocefalias não-tumorais, inviabilizando comparações para este grupo. A gravidade de HIC foi menor que o esperado no momento da ventriculostomia, pois a previsão de hipertensão foi baseada em dados clínicos e nas imagens de tomografia de urgência. Um leque maior de citocinas e fatores imunológicos poderiam ser realizados para maior acurácia dos achados. O estudo da série leucocitária com citometria de fluxo, poderia observar as relações e os marcadores de linfócitos e monócitos, fornecendo mais dados.

Para perspectivas futuras, dentro da neuropediatria, temos possíveis mecanismos imunológicos e não imunológicos a serem utilizados na atenuação da resposta a HIC na população infantil. Podem ser destacados alguns utilizados, nos pacientes graves, na prática clínica, como o uso de corticoides na ação anti-inflamatória e prevenção de danos neurológicos através da redução de metabolismo com medicações indutoras de estado comatoso e o uso de hipotermia. Para os estudos em animais, na ação anti-hipersecreção do plexo coróide, temos o bloqueio do conjunto TLR4/MyD88/NFκB atuando na redução de geração inflamatória de LCR nas moléculas de aquaporinas (Karimy, Reeves *et al.*, 2020). A ação antagônica da IL-18 pela IL-18BP demonstra menores danos cerebrais e infiltração dos macrófagos no SNC (Yatsiv,

Morganti-Kossmann *et al.*, 2002). A intervenção sobre a via inflamatória da IL-6 foi estudada pelo uso da tocilizumab que inibiu o excesso de danos no tecido cerebral (Scheller, Chalaris *et al.*, 2011). A IL-10 apresenta um papel de regulação das citocinas pró-inflamatórias, induzindo a polarização dos macrófagos para reparação tecidual e inibindo a progressão tumoral. Para a situação tumoral, genericamente, os bloqueios da IL-6, IL-18 ou IL-33 gerariam ação antitumorais. Entretanto, todas estas situações estão em modelos animais, ainda longe a utilização clínica. (Fernandes, Cobucci *et al.*, 2015)

Para novas propostas, na neurooncologia, nosso estudo possuiu foco no sistema imune dos tumores benignos, algo raro na pediatria. A maioria dos estudos focam apenas em tumores malignos. Assim, sugerimos mais estudos também focando nos tumores benignos. A IL-18 líquórica poderia, através de mais estudos, tornar-se um marcador ou imunomediador para HIC. Da mesma forma, a relação sistêmica entre a IL-10 e a IL-6, pode ser alvo de futuros experimentos, pois o fator cerebral tumoral ainda possui várias lacunas a serem preenchidas. Vale ressaltar que o estudo da associação de HIC, das citocinas do plasma e do LCR, da histologia independente da causa, é inédito na literatura, principalmente na neuropediatria, além dos escassos estudos em animais neste sentido.

10 CONCLUSÃO

Os dados do presente estudo permitem concluir que a resposta sistêmica à HIC foi atenuada na hidrocefalia tumoral, sendo mais evidente nos tumores benignos e na hidrocefalia não-tumoral essa mudança foi mínima. Houve uma diferença na expressão de citocinas com o aumento da IL-10 sérica em todos os pacientes com hidrocefalia, independente de causa e diminuição da IL-6 sérica nos pacientes com hidrocefalia tumoral (benigna), o que pode explicar a resposta sistêmica, além do aumento da IL-18 líquórica nos grupos com hidrocefalia, possivelmente um reflexo de injúria cerebral da HIC. Os tumores malignos apresentaram polarização M1 para macrófagos/micróglia e a presença de linfócitos citotóxicos e células de memória, entretanto esses achados não tiveram relação com a resposta sistêmica esperada.

REFERÊNCIAS

- AHAD, R.; KOSSOFF, E. H. Secondary intracranial causes for headaches in children. **Current Pain and Headache Reports**, v. 12, n. 5, p. 373-378, October 01 2008. ISSN 1534-3081. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s11916-008-0063-9> >.
- AL-JABI, Y.; EL-SHAWARBY, A. Value of C-reactive protein after neurosurgery: a prospective study. **Br J Neurosurg**, v. 24, n. 6, p. 653-9, Dec 2010. ISSN 1360-046X (Electronic)
0268-8697 (Linking).
- ALIEVI, P. T. et al. The impact of admission to a pediatric intensive care unit assessed by means of global and cognitive performance scales. **J Pediatr (Rio J)**, v. 83, n. 6, p. 505-11, Nov-Dec 2007. ISSN 0021-7557 (Print)
0021-7557 (Linking).
- ANDRADE, V. P. D. et al. O arranjo em matriz de amostras teciduais (tissue microarray): larga escala e baixo custo ao alcance do patologista. **J Bras Patol Med Lab**, v. 43, n. 1, p. 55-60, 2007.
- ARAKI, T.; YOKOTA, H.; MORITA, A. Pediatric Traumatic Brain Injury: Characteristic Features, Diagnosis, and Management. **Neurol Med Chir (Tokyo)**, v. 57, n. 2, p. 82-93, Feb 15 2017. ISSN 1349-8029 (Electronic)
0470-8105 (Print)
0470-8105 (Linking).
- BARBOSA, A. P.; CABRAL, S. A. [New therapies for intracranial hypertension]. **J Pediatr (Rio J)**, v. 79 Suppl 2, p. S139-48, Nov 2003. ISSN 0021-7557 (Print)
0021-7557 (Linking).
- BEATTY, G. L. et al. CD40 agonists alter tumor stroma and show efficacy against pancreatic carcinoma in mice and humans. **Science**, v. 331, n. 6024, p. 1612-6, Mar 25 2011. ISSN 1095-9203 (Electronic)
0036-8075 (Print)
0036-8075 (Linking).
- BERLOW, N. E. et al. IL-13 receptors as possible therapeutic targets in diffuse intrinsic pontine glioma. **PLoS One**, v. 13, n. 4, p. e0193565, 2018. ISSN 1932-6203 (Electronic)
1932-6203 (Linking).
- BHALLA, T. et al. Perioperative management of the pediatric patient with traumatic brain injury. **Pediatric Anesthesia**, v. 22, n. 7, p. 627-640, 2012. ISSN 11555645. Disponível em: < <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=afh&AN=76275272&lang=pt-br&site=ehost-live> >.
- BODEY, B. et al. Immunocytochemical detection of leukocyte-associated and apoptosis-related antigen expression in childhood brain tumors. **Crit Rev Oncol Hematol**, v. 39, n. 1-2, p. 3-16, Jul-Aug 2001. ISSN 1040-8428 (Print)
1040-8428 (Linking).

BOGUSZ, A.; MÜLLER, H. L. Childhood-onset craniopharyngioma: latest insights into pathology, diagnostics, treatment, and follow-up. **Expert Rev Neurother**, v. 18, n. 10, p. 793-806, Oct 2018. ISSN 1744-8360 (Electronic) 1473-7175 (Linking).

BORGIALLI, D. A. et al. Performance of the Pediatric Glasgow Coma Scale Score in the Evaluation of Children With Blunt Head Trauma. **Acad Emerg Med**, v. 23, n. 8, p. 878-84, Aug 2016. ISSN 1553-2712 (Electronic) 1069-6563 (Linking).

BRANDÃO, L. A.; YOUNG POUSSAINT, T. Posterior Fossa Tumors. **Neuroimaging Clin N Am**, v. 27, n. 1, p. 1-37, Feb 2017. ISSN 1557-9867 (Electronic) 1052-5149 (Linking).

BROOKS, S. A. Basic immunocytochemistry for light microscopy. **Methods Mol Biol**, v. 878, p. 1-30, 2012. ISSN 1940-6029 (Electronic) 1064-3745 (Linking).

BROWD, S. R. et al. Failure of cerebrospinal fluid shunts: part I: Obstruction and mechanical failure. **Pediatr Neurol**, v. 34, n. 2, p. 83-92, Feb 2006. ISSN 0887-8994 (Print) 0887-8994 (Linking).

BURMEISTER, A. R.; MARRIOTT, I. The Interleukin-10 Family of Cytokines and Their Role in the CNS. **Front Cell Neurosci**, v. 12, p. 458, 2018. ISSN 1662-5102 (Print) 1662-5102 (Electronic) 1662-5102 (Linking).

BYER, L. et al. A systematic review and meta-analysis of outcomes in pediatric, recurrent ependymoma. **J Neurooncol**, v. 144, n. 3, p. 445-452, Sep 2019. ISSN 1573-7373 (Electronic) 0167-594X (Linking).

BYRD, T.; GROSSMAN, R. G.; AHMED, N. Medulloblastoma-biology and microenvironment: a review. **Pediatr Hematol Oncol**, v. 29, n. 6, p. 495-506, Sep 2012. ISSN 1521-0669 (Electronic) 0888-0018 (Print) 0888-0018 (Linking).

CAVALCANTI, D. P.; SALOMÃO, M. A. Incidence of congenital hydrocephalus and the role of the prenatal diagnosis. **Jornal de pediatria**, v. 79, n. 2, p. 135-140, 2003. ISSN 0021-7557.

CHAN, V. et al. Children and youth with non-traumatic brain injury: a population based perspective. **BMC Neurology**, v. 16, n. 1, p. 1-10, 2016. ISSN 14712377. Disponível em: <<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=eoh&AN=39644633&lang=pt-br&site=eohost-live>>.

CHINTAGUMPALA, M.; GAJJAR, A. Brain tumors. **Pediatr Clin North Am**, v. 62, n. 1, p. 167-78, Feb 2015. ISSN 1557-8240 (Electronic)

0031-3955 (Linking).

COSENZA-NASHAT, M. A. et al. CD45 isoform expression in microglia and inflammatory cells in HIV-1 encephalitis. **Brain Pathol**, v. 16, n. 4, p. 256-65, Oct 2006. ISSN 1015-6305 (Print)
1750-3639 (Electronic)
1015-6305 (Linking).

CZECH, M.; GRESSENS, P.; KAINDL, A. M. The yin and yang of microglia. **Dev Neurosci**, v. 33, n. 3-4, p. 199-209, 2011. ISSN 1421-9859 (Electronic)
0378-5866 (Linking). Disponível em: < <https://www.karger.com/Article/Pdf/328989> >.

DA CUNHA, A. H. G. B. HIDROCEFALIA NA INFÂNCIA. **Revista Brasileira de Neurologia e Psiquiatria**, v. 18, n. 2, 2014.

DE BOECK, A. et al. Glioma-derived IL-33 orchestrates an inflammatory brain tumor microenvironment that accelerates glioma progression. **Nat Commun**, v. 11, n. 1, p. 4997, Oct 5 2020. ISSN 2041-1723 (Electronic)
2041-1723 (Linking).

DE VRIES, E. E. et al. Inflammatory mediators in human epilepsy: A systematic review and meta-analysis. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 63, p. 177-90, Apr 2016. ISSN 1873-7528 (Electronic)
0149-7634 (Linking).

DEL BIGLIO, M. R. Cellular damage and prevention in childhood hydrocephalus. **Brain Pathol**, v. 14, n. 3, p. 317-24, Jul 2004. ISSN 1015-6305 (Print)
1015-6305 (Linking).

DEREN, K. E. et al. Reactive astrocytosis, microgliosis and inflammation in rats with neonatal hydrocephalus. **Exp Neurol**, v. 226, n. 1, p. 110-9, Nov 2010. ISSN 1090-2430 (Electronic)
0014-4886 (Linking).

DEWAN, M. C. et al. The durability of endoscopic third ventriculostomy and ventriculoperitoneal shunts in children with hydrocephalus following posterior fossa tumor resection: a systematic review and time-to-failure analysis. **J Neurosurg Pediatr**, v. 19, n. 5, p. 578-584, May 2017. ISSN 1933-0715 (Electronic)
1933-0707 (Linking).

DI ROCCO, F. et al. Endoscopic third ventriculostomy and posterior fossa tumors. **World Neurosurg**, v. 79, n. 2 Suppl, p. S18 e15-9, Feb 2013. ISSN 1878-8769 (Electronic)
1878-8750 (Linking).

DIAO, S. et al. Immune cell infiltration and cytokine secretion analysis reveal a non-inflammatory microenvironment of medulloblastoma. **Oncol Lett**, v. 20, n. 6, p. 397, Dec 2020. ISSN 1792-1074 (Print)
1792-1082 (Electronic)
1792-1074 (Linking).

DINARELLO, C. A. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. **Immunol Rev**, v. 281, n. 1, p. 8-27, Jan 2018. ISSN 1600-065X (Electronic) 0105-2896 (Linking).

DOMINGUES, P. et al. Tumor infiltrating immune cells in gliomas and meningiomas. **Brain Behav Immun**, v. 53, p. 1-15, Mar 2016. ISSN 1090-2139 (Electronic) 0889-1591 (Linking).

ELLMEIER, W.; HAUST, L.; TSCHISMAROV, R. Transcriptional control of CD4 and CD8 coreceptor expression during T cell development. **Cell Mol Life Sci**, v. 70, n. 23, p. 4537-53, Dec 2013. ISSN 1420-9071 (Electronic) 1420-682X (Print) 1420-682X (Linking).

ESQUENAZI, Y.; LO, V. P.; LEE, K. Critical Care Management of Cerebral Edema in Brain Tumors. **J Intensive Care Med**, v. 32, n. 1, p. 15-24, Jan 2017. ISSN 1525-1489 (Electronic) 0885-0666 (Linking).

ESTES, M. L.; MCALLISTER, A. K. Alterations in immune cells and mediators in the brain: it's not always neuroinflammation! **Brain Pathol**, v. 24, n. 6, p. 623-30, Nov 2014. ISSN 1750-3639 (Electronic) 1015-6305 (Linking).

FAIRLIE-CLARKE, K. et al. Expression and Function of IL-33/ST2 Axis in the Central Nervous System Under Normal and Diseased Conditions. **Front Immunol**, v. 9, p. 2596, 2018. ISSN 1664-3224 (Electronic) 1664-3224 (Linking).

FERNANDES, J. V. et al. The role of the mediators of inflammation in cancer development. **Pathol Oncol Res**, v. 21, n. 3, p. 527-34, Jul 2015. ISSN 1532-2807 (Electronic) 1219-4956 (Linking).

FOLKERTH, R. D. et al. Interferon-gamma expression in periventricular leukomalacia in the human brain. **Brain Pathol**, v. 14, n. 3, p. 265-74, Jul 2004. ISSN 1015-6305 (Print) 1015-6305 (Linking).

FOSTER, J. B. et al. Immunotherapy for pediatric brain tumors: past and present. **Neuro Oncol**, v. 21, n. 10, p. 1226-1238, Oct 9 2019. ISSN 1523-5866 (Electronic) 1522-8517 (Print) 1522-8517 (Linking).

FOSTER, M. T.; HARISHCHANDRA, L. S.; MALLUCCI, C. Pediatric Central Nervous System Tumors: State-of-the-Art and Debated Aspects. **Front Pediatr**, v. 6, p. 309, 2018. ISSN 2296-2360 (Print) 2296-2360 (Electronic) 2296-2360 (Linking).

FULLER, C. E.; JONES, D. T. W.; KIERAN, M. W. New Classification for Central Nervous System Tumors: Implications for Diagnosis and Therapy. **Am Soc Clin Oncol Educ Book**, v. 37, p. 753-763, 2017. ISSN 1548-8756 (Electronic)

1548-8748 (Linking).

GAITANIS, J.; TARUI, T. Nervous System Malformations. **Continuum (Minneapolis)**, v. 24, n. 1, Child Neurology, p. 72-95, Feb 2018. ISSN 1538-6899 (Electronic) 1080-2371 (Linking).

GARCIA, J. M. et al. Role of Interleukin-10 in Acute Brain Injuries. **Front Neurol**, v. 8, p. 244, 2017. ISSN 1664-2295 (Print) 1664-2295 (Electronic) 1664-2295 (Linking).

GARCIA, R. F.; LEDERMAN, H. M.; BRANDÃO, J. Estudo dos ventrículos cerebrais por ultrassonografia, na criança normal, nascida a termo, de 1 a 6 meses. **Radiologia Brasileira**, v. 44, n. 6, p. 349-354, 2011.

GASTELUM, E. et al. Rates and characteristics of radiographically detected intracerebral cavernous malformations after cranial radiation therapy in pediatric cancer patients. **J Child Neurol**, v. 30, n. 7, p. 842-849, Jun 2015. ISSN 1708-8283 (Electronic) 0883-0738 (Print) 0883-0738 (Linking).

GIUGNO, K. M. et al. Tratamento da hipertensão intracraniana. **J Pediatr (Rio J)**, v. 79, n. 4, p. 287-96, 2003.

GLENNIE, M. J. et al. Mechanisms of killing by anti-CD20 monoclonal antibodies. **Mol Immunol**, v. 44, n. 16, p. 3823-37, Sep 2007. ISSN 0161-5890 (Print) 0161-5890 (Linking).

GLOD, J. et al. Pediatric Brain Tumors: Current Knowledge and Therapeutic Opportunities. **J Pediatr Hematol Oncol**, v. 38, n. 4, p. 249-60, May 2016. ISSN 1536-3678 (Electronic) 1077-4114 (Print) 1077-4114 (Linking).

GORDON, S.; PLÜDDEMANN, A.; MARTINEZ ESTRADA, F. Macrophage heterogeneity in tissues: phenotypic diversity and functions. **Immunol Rev**, v. 262, n. 1, p. 36-55, Nov 2014. ISSN 1600-065X (Electronic) 0105-2896 (Print) 0105-2896 (Linking).

GREITZ, D. Radiological assessment of hydrocephalus: new theories and implications for therapy. **Neurosurg Rev**, v. 27, n. 3, p. 145-65; discussion 166-7, Jul 2004. ISSN 0344-5607 (Print) 0344-5607 (Linking).

GRIESINGER, A. M. et al. Interleukin-6/STAT3 Pathway Signaling Drives an Inflammatory Phenotype in Group A Ependymoma. **Cancer Immunol Res**, v. 3, n. 10, p. 1165-74, Oct 2015. ISSN 2326-6074 (Electronic) 2326-6066 (Print) 2326-6066 (Linking).

GRIVENNIKOV, S. I.; GRETEN, F. R.; KARIN, M. Immunity, inflammation, and cancer. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 883-99, Mar 19 2010. ISSN 1097-4172 (Electronic)
0092-8674 (Print)
0092-8674 (Linking).

GUERREIRO STUCKLIN, A. S. et al. Review of molecular classification and treatment implications of pediatric brain tumors. **Curr Opin Pediatr**, v. 30, n. 1, p. 3-9, Feb 2018. ISSN 1531-698X (Electronic)
1040-8703 (Linking).

HAGBERG, H. et al. The role of inflammation in perinatal brain injury. **Nat Rev Neurol**, v. 11, n. 4, p. 192-208, Apr 2015. ISSN 1759-4766 (Electronic)
1759-4758 (Print)
1759-4758 (Linking).

HANAK, B. W. et al. Toward a better understanding of the cellular basis for cerebrospinal fluid shunt obstruction: report on the construction of a bank of explanted hydrocephalus devices. **J Neurosurg Pediatr**, v. 18, n. 2, p. 213-23, Aug 2016. ISSN 1933-0715 (Electronic)
1933-0707 (Print)
1933-0707 (Linking).

HANAMSAGAR, R.; HANKE, M. L.; KIELIAN, T. Toll-like receptor (TLR) and inflammasome actions in the central nervous system. **Trends Immunol**, v. 33, n. 7, p. 333-42, Jul 2012. ISSN 1471-4981 (Electronic)
1471-4906 (Linking).

HEEP, A. et al. Multiple brain abscesses in an extremely preterm infant: treatment surveillance with interleukin-6 in the CSF. **Eur J Pediatr**, v. 163, n. 1, p. 44-5, Jan 2004. ISSN 0340-6199 (Print)
0340-6199 (Linking).

HEESE, K. Functional repertoire of interleukin-6 in the central nervous system - a review. **Restor Neurol Neurosci**, v. 35, n. 6, p. 693-701, 2017. ISSN 1878-3627 (Electronic)
0922-6028 (Linking).

HEIKKILÄ, K.; EBRAHIM, S.; LAWLOR, D. A. A systematic review of the association between circulating concentrations of C reactive protein and cancer. **J Epidemiol Community Health**, v. 61, n. 9, p. 824-33, Sep 2007. ISSN 0143-005X (Print)
1470-2738 (Electronic)
0143-005X (Linking).

HORVAT, C. M.; MTAWEH, H.; BELL, M. J. Management of the Pediatric Neurocritical Care Patient. **Semin Neurol**, v. 36, n. 6, p. 492-501, Dec 2016. ISSN 1098-9021 (Electronic)
0271-8235 (Print)
0271-8235 (Linking).

HU, X. et al. Microglial and macrophage polarization—new prospects for brain repair. **Nat Rev Neurol**, v. 11, n. 1, p. 56-64, Jan 2015. ISSN 1759-4766 (Electronic)
1759-4758 (Print)

1759-4758 (Linking).

JAN, M. M. Neurological examination of difficult and poorly cooperative children. **J Child Neurol**, v. 22, n. 10, p. 1209-13, Oct 2007. ISSN 0883-0738 (Print)
0883-0738 (Linking).

JUCÁ, C. E. B. et al. Treatment of hydrocephalus by ventriculoperitoneal shunt: analysis of 150 consecutive cases in the Hospital of the Faculty of Medicine of Ribeirão Preto. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 17, p. 59-63, 2002. ISSN 0102-8650.

JUNG, H. K. et al. Interleukin-18 attenuates disruption of brain-blood barrier induced by status epilepticus within the rat piriform cortex in interferon- γ independent pathway. **Brain Res**, v. 1447, p. 126-34, Apr 4 2012. ISSN 1872-6240 (Electronic)
0006-8993 (Linking).

KAHLE, K. T. et al. Hydrocephalus in children. **Lancet**, v. 387, n. 10020, p. 788-99, Feb 20 2016. ISSN 1474-547X (Electronic)
0140-6736 (Linking).

KARIMY, J. K. et al. Inflammation in acquired hydrocephalus: pathogenic mechanisms and therapeutic targets. **Nat Rev Neurol**, v. 16, n. 5, p. 285-296, May 2020. ISSN 1759-4766 (Electronic)
1759-4758 (Print)
1759-4758 (Linking).

KARTHIGEYAN, M.; GUPTA, K.; SALUNKE, P. Pediatric Central Neurocytoma. **J Child Neurol**, v. 32, n. 1, p. 53-59, Jan 2017. ISSN 1708-8283 (Electronic)
0883-0738 (Linking).

KAWAKAMI, M. et al. Analysis of interleukin-13 receptor alpha2 expression in human pediatric brain tumors. **Cancer**, v. 101, n. 5, p. 1036-42, Sep 1 2004. ISSN 0008-543X (Print)
0008-543X (Linking).

KENNEDY, B. C. et al. Tumor-associated macrophages in glioma: friend or foe? **J Oncol**, v. 2013, p. 486912, 2013. ISSN 1687-8450 (Print)
1687-8450 (Linking).

KLINE, C. et al. Survival outcomes in pediatric recurrent high-grade glioma: results of a 20-year systematic review and meta-analysis. **J Neurooncol**, v. 137, n. 1, p. 103-110, Mar 2018. ISSN 1573-7373 (Electronic)
0167-594X (Print)
0167-594X (Linking).

KOSTOVIC, I.; JOVANOVIĆ-MILOSEVIC, N. The development of cerebral connections during the first 20-45 weeks' gestation. **Semin Fetal Neonatal Med**, v. 11, n. 6, p. 415-22, Dec 2006. ISSN 1744-165X (Print)
1744-165X (Linking).

KRISHNAMURTHY, S.; LI, J. New concepts in the pathogenesis of hydrocephalus. **Transl Pediatr**, v. 3, n. 3, p. 185-94, Jul 2014. ISSN 2224-4344 (Print)

2224-4336 (Linking).

LAM, S. et al. Management of hydrocephalus in children with posterior fossa tumors. **Surgical neurology international**, v. 6, n. Suppl 11, p. S346-S348, 2015. ISSN 2229-5097 2152-7806. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26236555> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4521311/> >.

LAMBERT, J. E.; CHRISTIANSEN, S. P.; PEELER, C. E. Don't Miss This! Red Flags in the Pediatric Eye Exam: Pupils. **J Binocul Vis Ocul Motil**, v. 69, n. 3, p. 102-105, Jul-Sep 2019. ISSN 2576-1218 (Electronic) 2576-117X (Linking).

LANNES, N. et al. Microglia at center stage: a comprehensive review about the versatile and unique residential macrophages of the central nervous system. **Oncotarget**, v. 8, n. 69, p. 114393-114413, Dec 26 2017. ISSN 1949-2553 (Electronic) 1949-2553 (Linking).

LAPORTA BAEZ, Y. et al. C-reactive protein in the diagnosis of postoperative infection in pediatric patients: a prospective observational study of 103 patients. **J Pediatr Surg**, v. 46, n. 9, p. 1726-31, Sep 2011. ISSN 1531-5037 (Electronic) 0022-3468 (Linking).

LEAVY, A.; JIMENEZ MATEOS, E. M. Perinatal Brain Injury and Inflammation: Lessons from Experimental Murine Models. **Cells**, v. 9, n. 12, Dec 8 2020. ISSN 2073-4409 (Electronic) 2073-4409 (Linking).

LEE, C. et al. M1 macrophage recruitment correlates with worse outcome in SHH Medulloblastomas. **BMC Cancer**, v. 18, n. 1, p. 535, May 8 2018. ISSN 1471-2407 (Electronic) 1471-2407 (Linking).

LESKOVAR, A. et al. The macrophage in acute neural injury: changes in cell numbers over time and levels of cytokine production in mammalian central and peripheral nervous systems. **J Exp Biol**, v. 203, n. Pt 12, p. 1783-95, Jun 2000. ISSN 0022-0949 (Print) 0022-0949 (Linking).

LI, M. D. et al. Brain Perfusion and Diffusion Abnormalities in Children Treated for Posterior Fossa Brain Tumors. **J Pediatr**, v. 185, p. 173-180 e3, Jun 2017. ISSN 1097-6833 (Electronic) 0022-3476 (Linking).

LI, S. J. et al. The role of TNF- α , IL-6, IL-10, and GDNF in neuronal apoptosis in neonatal rat with hypoxic-ischemic encephalopathy. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, v. 18, n. 6, p. 905-9, 2014. ISSN 2284-0729 (Electronic) 1128-3602 (Linking).

LIMBRICK, D. D., JR. et al. Pediatric hydrocephalus: systematic literature review and evidence-based guidelines. Part 4: Cerebrospinal fluid shunt or endoscopic third

ventriculostomy for the treatment of hydrocephalus in children. **J Neurosurg Pediatr**, v. 14 Suppl 1, p. 30-4, Nov 2014. ISSN 1933-0715 (Electronic)
1933-0707 (Linking).

LIN, C. T.; RIVA-CAMBRIN, J. K. Management of posterior fossa tumors and hydrocephalus in children: a review. **Childs Nerv Syst**, v. 31, n. 10, p. 1781-9, Oct 2015. ISSN 1433-0350 (Electronic)
0256-7040 (Linking).

LIN, D. et al. Immune Microenvironment of Primary and Recurrent Craniopharyngiomas: A Study of the Differences and Clinical Significance. **World Neurosurg**, v. 127, p. e212-e220, Jul 2019. ISSN 1878-8769 (Electronic)
1878-8750 (Linking).

LIN, G. L. et al. Non-inflammatory tumor microenvironment of diffuse intrinsic pontine glioma. **Acta Neuropathol Commun**, v. 6, n. 1, p. 51, Jun 28 2018. ISSN 2051-5960 (Electronic)
2051-5960 (Linking).

LOLAK, S.; BUNYARATAVEJ, K. C-reactive protein in prediction of ventriculoperitoneal shunt-related infection in high-risk patients. **Surg Infect (Larchmt)**, v. 14, n. 2, p. 192-5, Apr 2013. ISSN 1557-8674 (Electronic)
1096-2964 (Linking).

LOLANSEN, S. D. et al. Inflammatory Markers in Cerebrospinal Fluid from Patients with Hydrocephalus: A Systematic Literature Review. **Dis Markers**, v. 2021, p. 8834822, 2021. ISSN 1875-8630 (Electronic)
0278-0240 (Print)
0278-0240 (Linking).

LOUIS, D. N. et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. **Acta Neuropathol**, v. 131, n. 6, p. 803-20, Jun 2016. ISSN 1432-0533 (Electronic)
0001-6322 (Linking).

LOW, S. Y. Y. et al. Cerebrospinal fluid cytokines in metastatic group 3 and 4 medulloblastoma. **BMC Cancer**, v. 20, n. 1, p. 554, Jun 15 2020. ISSN 1471-2407 (Electronic)
1471-2407 (Linking).

MACKAY, M. T.; MONAGLE, P.; BABL, F. E. Brain attacks and stroke in children. **J Paediatr Child Health**, v. 52, n. 2, p. 158-63, Feb 2016. ISSN 1440-1754 (Electronic)
1034-4810 (Linking).

MACONOCHIE, I. K. et al. European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2015: Section 6. Paediatric life support. **Resuscitation**, v. 95, p. 223-48, Oct 2015. ISSN 1873-1570 (Electronic)
0300-9572 (Linking).

MALBARI, F.; LINDSAY, H. Genetics of Common Pediatric Brain Tumors. **Pediatr Neurol**, v. 104, p. 3-12, Mar 2020. ISSN 1873-5150 (Electronic) 0887-8994 (Linking).

MALLARD, C.; TREMBLAY, M. E.; VEXLER, Z. S. Microglia and Neonatal Brain Injury. **Neuroscience**, v. 405, p. 68-76, May 1 2019. ISSN 1873-7544 (Electronic) 0306-4522 (Print) 0306-4522 (Linking).

MANTOVANI, A. et al. Interleukin-1 and Related Cytokines in the Regulation of Inflammation and Immunity. **Immunity**, v. 50, n. 4, p. 778-795, Apr 16 2019. ISSN 1097-4180 (Electronic) 1074-7613 (Print) 1074-7613 (Linking).

MARSHALL, L. F. et al. The diagnosis of head injury requires a classification based on computed axial tomography. **J Neurotrauma**, v. 9 Suppl 1, p. S287-92, Mar 1992. ISSN 0897-7151 (Print) 0897-7151 (Linking).

MARTINEZ-LAGE, M. et al. Immune landscapes associated with different glioblastoma molecular subtypes. **Acta Neuropathol Commun**, v. 7, n. 1, p. 203, Nov 29 2019. ISSN 2051-5960 (Electronic) 2051-5960 (Linking).

MARTINEZ, F. O.; GORDON, S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. **F1000Prime Rep**, v. 6, p. 13, 2014. ISSN 2051-7599 (Print) 2051-7599 (Electronic) 2051-7599 (Linking).

MCALLISTER, J. P., 2ND. Pathophysiology of congenital and neonatal hydrocephalus. **Semin Fetal Neonatal Med**, v. 17, n. 5, p. 285-94, Oct 2012. ISSN 1878-0946 (Electronic) 1744-165X (Linking).

MCNEILL, K. A. Epidemiology of Brain Tumors. **Neurol Clin**, v. 34, n. 4, p. 981-998, Nov 2016. ISSN 1557-9875 (Electronic) 0733-8619 (Linking).

MIETTO, B. S.; MOSTACADA, K.; MARTINEZ, A. M. Neurotrauma and inflammation: CNS and PNS responses. **Mediators Inflamm**, v. 2015, p. 251204, 2015. ISSN 1466-1861 (Electronic) 0962-9351 (Linking).

MILLARD, N. E.; DE BRAGANCA, K. C. Medulloblastoma. **J Child Neurol**, v. 31, n. 12, p. 1341-53, Oct 2016. ISSN 1708-8283 (Electronic) 0883-0738 (Print) 0883-0738 (Linking).

MILLER, J. M.; MCALLISTER, J. P., 2ND. Reduction of astrogliosis and microgliosis by cerebrospinal fluid shunting in experimental hydrocephalus. **Cerebrospinal Fluid Res**, v. 4, p. 5, Jun 7 2007. ISSN 1743-8454 (Electronic) 1743-8454 (Linking).

MINISTÉRIO DA, S. **Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA RJ 2017.**

MORIOKA, C. et al. Neuroprotective effects of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells on periventricular leukomalacia-like brain injury in neonatal rats. **Inflamm Regen**, v. 37, p. 1, 2017. ISSN 1880-9693 (Print) 1880-8190 (Linking).

MORTEZAEE, K. et al. Inflammasome: Its role in traumatic brain and spinal cord injury. **J Cell Physiol**, v. 233, n. 7, p. 5160-5169, Jul 2018. ISSN 1097-4652 (Electronic) 0021-9541 (Linking).

MORTINI, P. et al. Surgical strategies and modern therapeutic options in the treatment of craniopharyngiomas. **Crit Rev Oncol Hematol**, v. 88, n. 3, p. 514-29, Dec 2013. ISSN 1879-0461 (Electronic) 1040-8428 (Linking).

NARAYAN, V. et al. Noninvasive Intracranial Pressure Monitoring for Severe Traumatic Brain Injury in Children: A Concise Update on Current Methods. **World Neurosurgery**, v. 114, p. 293-300, 2018/06/01/ 2018. ISSN 1878-8750. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878875018304327>>.

NAUREEN, I. et al. Fingerprint changes in CSF composition associated with different aetiologies in human neonatal hydrocephalus: inflammatory cytokines. **Childs Nerv Syst**, v. 30, n. 7, p. 1155-64, Jul 2014. ISSN 1433-0350 (Electronic) 0256-7040 (Linking).

NEUNHOEFFER, F. et al. Serum Concentrations of Interleukin-6, Procalcitonin, and C-Reactive Protein: Discrimination of Septical Complications and Systemic Inflammatory Response Syndrome after Pediatric Surgery. **Eur J Pediatr Surg**, v. 26, n. 2, p. 180-5, Apr 2016. ISSN 1439-359X (Electronic) 0939-7248 (Linking).

NEWELL, E. et al. Cerebrospinal Fluid Markers of Macrophage and Lymphocyte Activation After Traumatic Brain Injury in Children. **Pediatr Crit Care Med**, v. 16, n. 6, p. 549-57, Jul 2015. ISSN 1529-7535 (Print) 1529-7535 (Linking).

NOTARIANNI, C. et al. Congenital hydrocephalus and ventriculoperitoneal shunts: influence of etiology and programmable shunts on revisions. **J Neurosurg Pediatr**, v. 4, n. 6, p. 547-52, Dec 2009. ISSN 1933-0715 (Electronic) 1933-0707 (Linking).

O'HAYON, B. B. et al. Frontal and occipital horn ratio: A linear estimate of ventricular size for multiple imaging modalities in pediatric hydrocephalus. **Pediatr Neurosurg**, v. 29, n. 5, p. 245-9, Nov 1998. ISSN 1016-2291 (Print)
1016-2291 (Linking).

OGUNDIMU, E. O.; ALTMAN, D. G.; COLLINS, G. S. Adequate sample size for developing prediction models is not simply related to events per variable. **J Clin Epidemiol**, v. 76, p. 175-82, Aug 2016. ISSN 1878-5921 (Electronic)
0895-4356 (Print)
0895-4356 (Linking).

OI, S. Classification of hydrocephalus: critical analysis of classification categories and advantages of "Multi-categorical Hydrocephalus Classification" (Mc HC). **Childs Nerv Syst**, v. 27, n. 10, p. 1523-33, Oct 2011. ISSN 1433-0350 (Electronic)
0256-7040 (Linking).

ORROCK, J. E. et al. Association of brain injury and neonatal cytokine response during therapeutic hypothermia in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. **Pediatr Res**, v. 79, n. 5, p. 742-7, May 2016. ISSN 1530-0447 (Electronic)
0031-3998 (Print)
0031-3998 (Linking).

OSTROM, Q. T. et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2009-2013. **Neuro Oncol**, v. 18, n. suppl_5, p. v1-v75, Oct 1 2016. ISSN 1523-5866 (Electronic)
1522-8517 (Linking).

PALDINO, M. J.; FAERBER, E. N.; POUSSAINT, T. Y. Imaging tumors of the pediatric central nervous system. **Radiol Clin North Am**, v. 49, n. 4, p. 589-616, Jul 2011. ISSN 1557-8275 (Electronic)
0033-8389 (Linking).

PANIGRAHY, A.; BLÜML, S. Neuroimaging of pediatric brain tumors: from basic to advanced magnetic resonance imaging (MRI). **J Child Neurol**, v. 24, n. 11, p. 1343-65, Nov 2009. ISSN 1708-8283 (Electronic)
0883-0738 (Linking).

PARDO, C. A. et al. Serum and cerebrospinal fluid immune mediators in children with autistic disorder: a longitudinal study. **Mol Autism**, v. 8, p. 1, 2017. ISSN 2040-2392 (Electronic).

PARKIN, J.; COHEN, B. An overview of the immune system. **Lancet**, v. 357, n. 9270, p. 1777-89, Jun 2 2001. ISSN 0140-6736 (Print)
0140-6736 (Linking).

PARSA, A. T.; BRUCE, J. N. Pineal region tumors. Preface. **Neurosurg Clin N Am**, v. 22, n. 3, p. xi, Jul 2011. ISSN 1558-1349 (Electronic)
1042-3680 (Linking).

PASQUALINI, C. et al. Modeling the Interaction between the Microenvironment and Tumor Cells in Brain Tumors. **Neuron**, v. 108, n. 6, p. 1025-1044, Dec 23 2020. ISSN 1097-4199 (Electronic)
0896-6273 (Linking).

PAVCNIK-ARNOL, M. et al. Changes in serum procalcitonin, interleukin 6, interleukin 8 and C-reactive protein in neonates after surgery. **Eur J Pediatr Surg**, v. 20, n. 4, p. 262-6, Jul 2010. ISSN 1439-359X (Electronic)
0939-7248 (Linking).

PELOSO, P. **Recomendações da sociedade brasileira de patologia clínica/ medicina laboratorial Boas Práticas em Microbiologia Clínica.** 2015.

PENG, J. et al. Clinical features and prognosis of pediatric infradiaphragmatic craniopharyngioma relative to the tumor inflammatory response. **Pediatr Res**, Jun 19 2020. ISSN 1530-0447 (Electronic)
0031-3998 (Linking).

PIATT, J. H., JR.; GARTON, H. J. Clinical diagnosis of ventriculoperitoneal shunt failure among children with hydrocephalus. **Pediatr Emerg Care**, v. 24, n. 4, p. 201-10, Apr 2008. ISSN 1535-1815 (Electronic)
0749-5161 (Linking).

PIERRE, W. C. et al. Neonatal microglia: The cornerstone of brain fate. **Brain Behav Immun**, v. 59, p. 333-345, Jan 2017. ISSN 1090-2139 (Electronic)
0889-1591 (Linking).

PIRES-AFONSO, Y.; NICLOU, S. P.; MICHELUCCI, A. Revealing and Harnessing Tumour-Associated Microglia/Macrophage Heterogeneity in Glioblastoma. **Int J Mol Sci**, v. 21, n. 3, Jan 21 2020. ISSN 1422-0067 (Electronic)
1422-0067 (Linking).

POLLACK, I. F.; AGNIHOTRI, S.; BRONISCHER, A. Childhood brain tumors: current management, biological insights, and future directions. **J Neurosurg Pediatr**, v. 23, n. 3, p. 261-273, Mar 1 2019. ISSN 1933-0715 (Electronic)
1933-0707 (Print)
1933-0707 (Linking).

POLLARD, J. W. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis. **Nat Rev Cancer**, v. 4, n. 1, p. 71-8, Jan 2004. ISSN 1474-175X (Print)
1474-175X (Linking).

PRANZATELLI, M. R. Advances in Biomarker-Guided Therapy for Pediatric- and Adult-Onset Neuroinflammatory Disorders: Targeting Chemokines/Cytokines. **Front Immunol**, v. 9, p. 557, 2018. ISSN 1664-3224 (Print)
1664-3224 (Electronic)
1664-3224 (Linking).

PROUT, A. J.; WOLF, M. S.; FINK, E. L. Translating biomarkers from research to clinical use in pediatric neurocritical care: focus on traumatic brain injury and cardiac arrest. **Curr Opin Pediatr**, v. 29, n. 3, p. 272-279, Jun 2017. ISSN 1531-698X (Electronic) 1040-8703 (Linking).

RAGAN, D. K. et al. The accuracy of linear indices of ventricular volume in pediatric hydrocephalus: technical note. **J Neurosurg Pediatr**, v. 15, n. 6, p. 547-51, Jun 2015. ISSN 1933-0715 (Electronic) 1933-0707 (Print) 1933-0707 (Linking).

RANSOHOFF, R. M.; KIVISÄKK, P.; KIDD, G. Three or more routes for leukocyte migration into the central nervous system. **Nat Rev Immunol**, v. 3, n. 7, p. 569-81, Jul 2003. ISSN 1474-1733 (Print) 1474-1733 (Linking).

RAYBAUD, C. MR assessment of pediatric hydrocephalus: a road map. **Child's Nervous System: Chns: Official Journal Of The International Society For Pediatric Neurosurgery**, Germany, v. 32, n. 1, p. 19-41, 2016. ISSN 1433-0350. Disponível em: <<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=mnh&AN=26337698&lang=pt-br&site=ehost-live>>.

REILLY, P. L. et al. Assessing the conscious level in infants and young children: a paediatric version of the Glasgow Coma Scale. **Childs Nerv Syst**, v. 4, n. 1, p. 30-3, Feb 1988. ISSN 0256-7040 (Print) 0256-7040 (Linking).

REKATE, H. L. A contemporary definition and classification of hydrocephalus. **Semin Pediatr Neurol**, v. 16, n. 1, p. 9-15, Mar 2009. ISSN 1558-0776 (Electronic) 1071-9091 (Linking).

_____. A consensus on the classification of hydrocephalus: its utility in the assessment of abnormalities of cerebrospinal fluid dynamics. **Childs Nerv Syst**, v. 27, n. 10, p. 1535-41, Oct 2011. ISSN 1433-0350 (Electronic) 0256-7040 (Linking).

RIVEST, S. Regulation of innate immune responses in the brain. **Nat Rev Immunol**, v. 9, n. 6, p. 429-39, Jun 2009. ISSN 1474-1741 (Electronic) 1474-1733 (Linking).

RODDY, E.; MUELLER, S. Late Effects of Treatment of Pediatric Central Nervous System Tumors. **J Child Neurol**, v. 31, n. 2, p. 237-54, Feb 2016. ISSN 1708-8283 (Electronic) 0883-0738 (Linking).

RODNEY, T.; OSIER, N.; GILL, J. Pro- and anti-inflammatory biomarkers and traumatic brain injury outcomes: A review. **Cytokine**, v. 110, p. 248-256, Oct 2018. ISSN 1096-0023 (Electronic) 1043-4666 (Linking).

- ROTHAUG, M.; BECKER-PAULY, C.; ROSE-JOHN, S. The role of interleukin-6 signaling in nervous tissue. **Biochim Biophys Acta**, v. 1863, n. 6 Pt A, p. 1218-27, Jun 2016. ISSN 0006-3002 (Print)
0006-3002 (Linking).
- SANDÉN, E. et al. Preoperative systemic levels of VEGFA, IL-7, IL-17A, and TNF- β delineate two distinct groups of children with brain tumors. **Pediatr Blood Cancer**, v. 63, n. 12, p. 2112-2122, Dec 2016. ISSN 1545-5017 (Electronic)
1545-5009 (Linking).
- SANTOS DE OLIVEIRA, R. et al. Hydrocephalus in posterior fossa tumors in children. Are there factors that determine a need for permanent cerebrospinal fluid diversion? **Childs Nerv Syst**, v. 24, n. 12, p. 1397-403, Dec 2008. ISSN 1433-0350 (Electronic)
0256-7040 (Linking).
- SAR1, E. et al. Measures of ventricles and evans' index: from neonate to adolescent. **Pediatr Neurosurg**, v. 50, n. 1, p. 12-7, 2015. ISSN 1423-0305 (Electronic)
1016-2291 (Linking).
- SARIEGO-JAMARDO, A. et al. C-reactive protein, procalcitonin and interleukin-6 kinetics in pediatric postoperative patients. **J Crit Care**, v. 41, p. 119-123, Oct 2017. ISSN 1557-8615 (Electronic)
0883-9441 (Linking).
- SAUNDERS, A. E.; JOHNSON, P. Modulation of immune cell signalling by the leukocyte common tyrosine phosphatase, CD45. **Cell Signal**, v. 22, n. 3, p. 339-48, Mar 2010. ISSN 1873-3913 (Electronic)
0898-6568 (Linking).
- SAVMAN, K. et al. Cytokine response in cerebrospinal fluid from preterm infants with posthaemorrhagic ventricular dilatation. **Acta Paediatr**, v. 91, n. 12, p. 1357-63, 2002. ISSN 0803-5253 (Print)
0803-5253 (Linking).
- SCHELLER, J. et al. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. **Biochim Biophys Acta**, v. 1813, n. 5, p. 878-88, May 2011. ISSN 0006-3002 (Print)
0006-3002 (Linking).
- SCHUHMANN, M. U. et al. The value of C-reactive protein in the management of shunt infections. **J Neurosurg**, v. 103, n. 3 Suppl, p. 223-30, Sep 2005. ISSN 0022-3085 (Print)
0022-3085 (Linking).
- SHAROUF, F. et al. C-reactive protein kinetics post elective cranial surgery. A prospective observational study. **Br J Neurosurg**, v. 34, n. 1, p. 46-50, Feb 2020. ISSN 1360-046X (Electronic)
0268-8697 (Linking).
- SHEKDAR, K. V.; SCHWARTZ, E. S. Brain Tumors in the Neonate. **Neuroimaging Clin N Am**, v. 27, n. 1, p. 69-83, Feb 2017. ISSN 1557-9867 (Electronic)
1052-5149 (Linking).

SHIMONY, N. et al. Non-traumatic pediatric intracranial hypertension: key points for different etiologies, diagnosis, and treatment. **Acta Neurol Belg**, Apr 7 2021. ISSN 2240-2993 (Electronic)
0300-9009 (Linking).

SHORTMAN, K.; HEATH, W. R. The CD8+ dendritic cell subset. **Immunol Rev**, v. 234, n. 1, p. 18-31, Mar 2010. ISSN 1600-065X (Electronic)
0105-2896 (Linking).

SIFRINGER, M. et al. Activation of caspase-1 dependent interleukins in developmental brain trauma. **Neurobiol Dis**, v. 25, n. 3, p. 614-22, Mar 2007. ISSN 0969-9961 (Print)
0969-9961 (Linking).

SILVA, A. H. D.; AQUILINA, K. Surgical approaches in pediatric neuro-oncology. **Cancer Metastasis Rev**, v. 38, n. 4, p. 723-747, Dec 2019. ISSN 1573-7233 (Electronic)
0167-7659 (Linking).

SOLOMON, D. et al. The effect of rFVIIa on pro- and anti-inflammatory cytokines in serum and cerebrospinal fluid in a swine model of traumatic brain injury. **Cytokine**, v. 54, n. 1, p. 20-3, Apr 2011. ISSN 1096-0023 (Electronic)
1043-4666 (Linking).

SONG, L. et al. Changes in peripheral blood regulatory T cells, and IL-6 and IL-10 levels predict response of pediatric medulloblastoma and germ cell tumors with residual or disseminated disease to craniospinal irradiation. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, May 8 2021. ISSN 1879-355X (Electronic)
0360-3016 (Linking).

STRAHLE, J. et al. Mechanisms of hydrocephalus after neonatal and adult intraventricular hemorrhage. **Transl Stroke Res**, v. 3, n. Suppl 1, p. 25-38, Jul 2012. ISSN 1868-601X (Electronic)
1868-4483 (Print)
1868-4483 (Linking).

SUPRAMANIAM, V. et al. Microglia activation in the extremely preterm human brain. **Pediatr Res**, v. 73, n. 3, p. 301-9, Mar 2013. ISSN 1530-0447 (Electronic)
0031-3998 (Linking).

SZULZEWSKY, F. et al. Glioma-associated microglia/macrophages display an expression profile different from M1 and M2 polarization and highly express Gpnmb and Spp1. **PLoS One**, v. 10, n. 2, p. e0116644, 2015. ISSN 1932-6203 (Electronic)
1932-6203 (Linking).

TATE, M. C.; RUTKOWSKI, M. J.; PARSA, A. T. Contemporary management of pineoblastoma. **Neurosurg Clin N Am**, v. 22, n. 3, p. 409-12, ix, Jul 2011. ISSN 1558-1349 (Electronic)
1042-3680 (Linking).

THOMPSON, C. D. et al. The therapeutic role of interleukin-10 after spinal cord injury. **J Neurotrauma**, v. 30, n. 15, p. 1311-24, Aug 1 2013. ISSN 1557-9042 (Electronic) 0897-7151 (Linking).

TROFIMOVA, A. et al. Imaging of Children With Nontraumatic Headaches. **AJR Am J Roentgenol**, v. 210, n. 1, p. 8-17, Jan 2018. ISSN 1546-3141 (Electronic) 0361-803X (Linking).

TURTZO, L. C. et al. Macrophagic and microglial responses after focal traumatic brain injury in the female rat. **J Neuroinflammation**, v. 11, p. 82, Apr 24 2014. ISSN 1742-2094 (Electronic) 1742-2094 (Linking).

UDAKA, Y. T.; PACKER, R. J. Pediatric Brain Tumors. **Neurol Clin**, v. 36, n. 3, p. 533-556, Aug 2018. ISSN 1557-9875 (Electronic) 0733-8619 (Linking).

ULFIG, N. et al. Brain macrophages and microglia in human fetal hydrocephalus. **Brain Dev**, v. 26, n. 5, p. 307-15, Aug 2004. ISSN 0387-7604 (Print) 0387-7604 (Linking).

VAN DE STOLPE, A. et al. Enabling precision medicine by unravelling disease pathophysiology: quantifying signal transduction pathway activity across cell and tissue types. **Sci Rep**, v. 9, n. 1, p. 1603, Feb 7 2019. ISSN 2045-2322 (Electronic) 2045-2322 (Linking).

VERNEY, C. et al. Early microglial colonization of the human forebrain and possible involvement in periventricular white-matter injury of preterm infants. **J Anat**, v. 217, n. 4, p. 436-48, Oct 2010. ISSN 1469-7580 (Electronic) 0021-8782 (Print) 0021-8782 (Linking).

VINCHON, M.; REKATE, H.; KULKARNI, A. V. Pediatric hydrocephalus outcomes: a review. **Fluids Barriers CNS**, v. 9, n. 1, p. 18, Aug 27 2012. ISSN 2045-8118 (Electronic) 2045-8118 (Linking).

VOLPE, J. J. The encephalopathy of prematurity--brain injury and impaired brain development inextricably intertwined. **Semin Pediatr Neurol**, v. 16, n. 4, p. 167-78, Dec 2009. ISSN 1558-0776 (Electronic) 1071-9091 (Linking).

WEI, J.; GABRUSIEWICZ, K.; HEIMBERGER, A. The controversial role of microglia in malignant gliomas. **Clin Dev Immunol**, v. 2013, p. 285246, 2013. ISSN 1740-2530 (Electronic) 1740-2522 (Print) 1740-2522 (Linking).

WELLS, E. M.; PACKER, R. J. Pediatric brain tumors. **Continuum (Minneap Minn)**, v. 21, n. 2 Neuro-oncology, p. 373-96, Apr 2015. ISSN 1538-6899 (Electronic) 1080-2371 (Linking).

WHITELAW, A. et al. Diuretic therapy for newborn infants with posthemorrhagic ventricular dilatation. **The Cochrane Library**, 2001. ISSN 1465-1858.

WIEGAND, C.; RICHARDS, P. Measurement of intracranial pressure in children: a critical review of current methods. **Developmental Medicine & Child Neurology**, v. 49, n. 12, p. 935-941, 2007. ISSN 00121622
14698749. Disponível em: <
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=eoh&AN=13359718&lang=pt-br&site=ehost-live>>.

WIEGERING, V. et al. TH1 predominance is associated with improved survival in pediatric medulloblastoma patients. **Cancer Immunol Immunother**, v. 60, n. 5, p. 693-703, May 2011. ISSN 1432-0851 (Electronic)
0340-7004 (Linking).

WILNE, S. et al. Presentation of childhood CNS tumours: a systematic review and meta-analysis. **Lancet Oncol**, v. 8, n. 8, p. 685-95, Aug 2007. ISSN 1470-2045 (Print)
1470-2045 (Linking).

WILSON, E. H.; WENINGER, W.; HUNTER, C. A. Trafficking of immune cells in the central nervous system. **J Clin Invest**, v. 120, n. 5, p. 1368-79, May 2010. ISSN 1558-8238 (Electronic)
0021-9738 (Print)
0021-9738 (Linking).

WILSON, J. R. F. et al. Pre-operative neutrophil count and neutrophil-lymphocyte count ratio (NLCR) in predicting the histological grade of paediatric brain tumours: a preliminary study. **Acta Neurochir (Wien)**, v. 160, n. 4, p. 793-800, Apr 2018. ISSN 0942-0940 (Electronic)
0001-6268 (Print)
0001-6268 (Linking).

WYNANTS, L. et al. A simulation study of sample size demonstrated the importance of the number of events per variable to develop prediction models in clustered data. **J Clin Epidemiol**, v. 68, n. 12, p. 1406-14, Dec 2015. ISSN 1878-5921 (Electronic)
0895-4356 (Linking).

YANG, I. et al. The role of microglia in central nervous system immunity and glioma immunology. **J Clin Neurosci**, v. 17, n. 1, p. 6-10, Jan 2010. ISSN 1532-2653 (Electronic)
0967-5868 (Print)
0967-5868 (Linking).

YATSIV, I. et al. Elevated intracranial IL-18 in humans and mice after traumatic brain injury and evidence of neuroprotective effects of IL-18-binding protein after experimental closed head injury. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 22, n. 8, p. 971-8, Aug 2002. ISSN 0271-678X (Print)
0271-678X (Linking).

YOUN, Y. A. et al. Serial examination of serum IL-8, IL-10 and IL-1Ra levels is significant in neonatal seizures induced by hypoxic-ischaemic encephalopathy. **Scand J Immunol**, v. 76, n. 3, p. 286-93, Sep 2012. ISSN 1365-3083 (Electronic)
0300-9475 (Linking).

ZEBIAN, B. et al. Recent technological advances in pediatric brain tumor surgery. **CNS Oncol**, v. 6, n. 1, p. 71-82, Jan 2017. ISSN 2045-0915 (Electronic)
2045-0907 (Linking).

ZHANG, J. F. et al. IL-33 enhances glioma cell migration and invasion by upregulation of MMP2 and MMP9 via the ST2-NF- κ B pathway. **Oncol Rep**, v. 38, n. 4, p. 2033-2042, Oct 2017. ISSN 1791-2431 (Electronic)
1021-335X (Print)
1021-335X (Linking).

ZHANG, X. et al. The Contradictory Role of Interleukin-33 in Immune Cells and Tumor Immunity. **Cancer Manag Res**, v. 12, p. 7527-7537, 2020. ISSN 1179-1322 (Print)
1179-1322 (Electronic)
1179-1322 (Linking).

ZHANG, X. et al. Invasive and noninvasive means of measuring intracranial pressure: a review. **Physiol Meas**, v. 38, n. 8, p. R143-R182, Jul 24 2017. ISSN 1361-6579 (Electronic)
0967-3334 (Linking).

ZHANG, Z. Y. et al. Usefulness of serum interleukin-33 as a prognostic marker of severe traumatic brain injury. **Clin Chim Acta**, v. 497, p. 6-12, Oct 2019. ISSN 1873-3492 (Electronic)
0009-8981 (Linking).

ZHOU, K. et al. Recent Advances of the NLRP3 Inflammasome in Central Nervous System Disorders. **J Immunol Res**, v. 2016, p. 9238290, 2016. ISSN 2314-7156 (Electronic)
2314-8861 (Print)
2314-7156 (Linking).

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO E ASSENTIMENTO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)-GERAL

- DO QUE SE TRATA:

Estamos pedindo autorização para que seu filho faça parte da pesquisa “ANÁLISE PROTEÔMICA DE MATERIAIS BIOLÓGICOS DE NEUROCIRURGIA PEDIÁTRICA”. Com este estudo queremos saber o que tem de importante no tecido nervoso, no sangue e do líquido da cabeça no momento que vai ser operado. Esse estudo está sendo realizado porque ainda não conhecemos o suficiente das doenças que atinge o cérebro. Queremos descobrir nas pequenas partículas no sangue, material de cérebro, tumor ou líquido (líquido que existe dentro da cabeça) para ajudar no diagnóstico das crianças e adolescentes que têm doenças neurológicas. As crianças que irão participar dessa pesquisa têm de 1 mês de idade a 18 anos de idade.

- MOTIVO DO CONVITE:

Estamos convidando seu filho, pois ele está programado a realizar cirurgia neurológica no HOSPITAL INFANTIL ALBERT SABIN-HIAS porque ele tem algum destes problemas (hidrocefalia, tumor cerebral, estreitamento do crânio, infecção no sistema nervoso, meningocele). O médico que irá realizar a cirurgia já lhe explicou porque irá operar o filho e os riscos desta cirurgia. Durante a cirurgia ele irá colher um pouco de tecido nervoso, líquido do sangue e do líquido da cabeça como ocorre normalmente.

- O QUÊ SERÁ FEITO:

Informamos que no momento da cirurgia ele estará dormindo, e a coleta desses materiais não terá nenhum dano pois durante a cirurgia, os médicos terão contato com estes materiais. A retirada do fragmento de tumor, sangue e do líquido da cabeça já é rotina do hospital e os pesquisadores, que realizam exames de rotina. Nós estamos pedindo autorização de pegar um pouco destes materiais para realizar exames especiais. Esta pequena quantidade de material não fará falta para seu filho ou impedirá de resolver o problema de saúde dele.

- BENEFÍCIOS PARA MEU FILHO:

A participação do seu filho não terá benefícios diretos com esta pesquisa, porém, é muito importante para os pesquisadores descobrirem exames laboratoriais de alguma forma irá melhorar a vida dos pacientes com doença neurológica. Informamos que o seu filho não é obrigado a participar do estudo e se aceitar poderá desistir em qualquer momento, mesmo tendo assinado este documento. Garantimos que se você desistir, o tratamento dele vai continuar normalmente e que terão acesso aos resultados dos seus exames se assim quiserem. Caso necessite você e seu filho virem para o hospital causa da pesquisa, nós daremos dinheiro suficiente para transporte e alimentação durante sua estadia no hospital.

- RISCOS DA PESQUISA:

Os riscos em fazer parte deste estudo são mínimos, devido ao fato da retirada de sangue, do líquido da cabeça e do tecido nervoso ser muito bem tolerada pelo organismo. Estes procedimentos são comumente realizados pelos cirurgiões e anestesistas durante o tratamento normal dos pacientes. Porém, caso haja algum problema relacionado ao exame, será garantida pelo pesquisador a assistência médica satisfatória para tratar e resolver algum possível efeito indesejável, durante o internamento ou mesmo fora do internamento.

- COLETA DE INFORMAÇÃO NO PRONTUÁRIO E JUNTO A CRIANÇA, E SIGILO DAS INFORMAÇÕES:

Os pesquisadores terão contato com o prontuário médico de seu filho, e colherão informações da doença e dos exames realizados. Quando estiver internado, os pesquisadores irão fazer algumas perguntas simples antes e depois da cirurgia. Durante a operação e depois dela, seu filho vai receber o tratamento normal. Prometemos que todas as informações somente serão usadas neste estudo e o nome do seu filho vai ser mantido em segredo. O nome do seu filho será identificado apenas por números e as informações serão de restrito uso dos pesquisadores.

PÁGINA 2 DE 2

- COMO VERIFICAR OS RESULTADOS DOS EXAMES DO HOSPITAL E DESTA PESQUISA?

Ninguém saberá que seu filho está participando da pesquisa, não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações. Os resultados da pesquisa vão ser publicados, mas sem identificar as crianças que participaram da pesquisa. Quando terminarmos a pesquisa, divulgaremos em revista científica. Os exames que serão feitos no hospital, você pode perguntar para seu médico da enfermaria. Estará disponível no prontuário médico.

- DESTINO DO MATERIAL COLETADO:

O material biológico será guardado em freezer no laboratório do Nubex localizado na Universidade de Fortaleza (UNIFOR), no momento oportuno o material será descongelado e estudado. Este material poderá ser guardado por até 10 anos, depois será descartado.

Você junto com sua família terá o tempo que desejar para decidir se deseja ou não participar da pesquisa, tome o tempo necessário para tomada de decisão de forma livre e esclarecida.

Qualquer pergunta que você queira fazer sobre o estudo poderá ser respondida pelos pesquisadores:

O principal investigador é o Dr. Carlos Eduardo Barros Jucá (CRM-12522) que pode ser encontrado no ambulatório de neurocirurgia do HIAS nas terça pela manhã, na enfermaria de neurologia do HIAS nas segunda, quarta ou sextas pela manhã, ou no centro cirúrgico do HIAS. Ou entrar em contato nos telefones: (85) 30477747, 31014226, 31014200. Se você tiver alguma dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Infantil Albert Sabin em horário comercial na Rua Tertuliano Sales, 544. Vila União. Fortaleza. CE. CEP: 60410-790. Telefone (85) 31014200. (85) 31014226.

Assinatura do participante/representante legal (Rubricar as demais páginas)

Assinatura do pesquisador

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) - CONTROLE

- DO QUE SE TRATA:

Estamos pedindo autorização para que seu filho faça parte da pesquisa "ANÁLISE PROTEÔMICA DE MATERIAIS BIOLÓGICOS DE NEUROCIRURGIA PEDIÁTRICA". Com este estudo queremos saber o que tem de importante no sangue e do líquido do tecido nervoso no momento que vai ser operado. Esse estudo está sendo realizado porque ainda não conhecemos o suficiente das doenças que atinge o cérebro, lembramos que seu filho não tem doença cerebral, queremos comparar seu filho que é normal com outras crianças doentes. Queremos descobrir nas pequenas partículas no sangue, material de cérebro, tumor ou líquido (líquido que existe dentro da cabeça) para ajudar no diagnóstico das outras crianças e adolescentes que tem doenças neurológicas. As crianças que irão participar dessa pesquisa têm 1 mês de idade a 18 anos de idade.

- MOTIVO DO CONVITE:

Estamos convidando seu filho pois ele está programado a realizar cirurgia no HOSPITAL INFANTIL ALBERT SABIN-HIAS. Seu filho não tem nenhuma doença neurológica que necessite de cirurgia na cabeça. Porém ele está programado para realizar cirurgia neste hospital (cirurgia: _____), neste momento quando ele estiver dormindo em anestesia geral e no momento da raquianestesia (anestesia da coluna para fazer cirurgia do umbigo para baixo), os médicos terão contato com o sangue e o líquido do tecido nervoso por motivo da cirurgia e da anestesia. Gostaríamos que você permitisse colher um pouco de sangue e líquido do tecido nervoso.

- O QUÊ SERÁ FEITO:

Informamos que no momento da cirurgia ele estará dormindo e não sentirá nada. Gostaríamos de aproveitar durante a anestesia que será anestesia geral e raquianestesia para retirar um pouco de líquido da coluna e do sangue. Enquanto seu filho estiver dormindo os médicos irão ter contato com sangue e líquido do tecido nervoso como ocorre normalmente, este pouco material retirado não fará falta ao seu corpo. A retirada do sangue e do líquido do tecido nervoso já é rotina do hospital e dos pesquisadores para fins de tratamento. Nós estamos pedindo autorização de coletar um pouco destes materiais que não farão falta para seu filho ou impedirá de resolver o problema de saúde dele.

- BENEFÍCIOS PARA MEU FILHO:

Seu filho não se beneficia direto com esta pesquisa, porém coisas boas que podem acontecer como os pesquisadores descobrirem exames laboratoriais de alguma forma de melhorar a vida dos pacientes. Quando compararem o seu exame, que é normal, com crianças com doenças neurológicas, poderemos descobrir como melhorar a vida destas crianças doentes. Caso necessite, você e seu filho necessitem vir para o hospital causa da pesquisa, nós daremos dinheiro suficiente para transporte e alimentação durante sua estadia no hospital.

- RISCOS DA PESQUISA:

Existe o risco da cirurgia que seu filho está programado a fazer. O risco da retirada destes materiais é mínima, mas é possível ocorrer dor e inchaço. Os riscos em fazer parte deste estudo são mínimos, devido ao fato da retirada de sangue, do líquido do tecido nervoso ser muito bem tolerada pelo organismo. Estes procedimentos são comumente realizados pelos cirurgiões e anestesistas durante o tratamento normal dos pacientes. Porém, caso haja algum problema relacionado ao exame, será garantida pelo pesquisador a assistência médica satisfatória para tratar e resolver algum possível efeito indesejável, durante o internamento ou mesmo fora do internamento.

- COLETA DE INFORMAÇÃO NO PRONTUÁRIO E JUNTO A CRIANÇA, E SIGILO DAS INFORMAÇÕES:

Os pesquisadores terão contato com o prontuário médico de seu filho, e colherão informações da alguma doença e dos exames realizados. Quando estiver internado, os pesquisadores irão fazer algumas perguntas simples antes e depois da cirurgia. Durante a operação e depois dela, seu filho vai receber o tratamento normal. Prometemos que todas as informações somente serão usadas neste estudo e o nome do seu filho vai ser mantido em segredo. O nome do seu filho será identificado apenas por números e as informações serão de restrito uso dos pesquisadores.

- DESTINO DO MATERIAL COLETADO:

O material biológico será guardado em freezer no laboratório do Nubex localizado na Universidade de Fortaleza (UNIFOR), no momento oportuno o material será descongelado e estudado. Este material poderá ser guardado por até 10 anos, depois será descartado.

- COMO VERIFICAR OS RESULTADOS DOS EXAMES DO HOSPITAL E DESTA PESQUISA?

Ninguém saberá que seu filho está participando da pesquisa, não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações. Os resultados da pesquisa vão ser publicados, mas sem identificar as crianças que participaram da pesquisa. Quando terminarmos a pesquisa, divulgaremos em revista científica. Os exames feitos no hospital, você pode perguntar para seu médico da enfermaria. Estará disponível no prontuário médico.

Você junto com sua família terá o tempo que desejar para decidir se deseja ou não participar da pesquisa, tome o tempo necessário para tomada de decisão de forma livre e esclarecida.

Qualquer pergunta que você queira fazer sobre o estudo poderá ser respondida pelos pesquisadores:

O principal investigador é o Dr. Carlos Eduardo Barros Jucá (CRM-12522) que pode ser encontrado no ambulatório de neurocirurgia do HIAS nas terça pela manhã, na enfermaria de neurologia do HIAS nas segunda, quarta ou sextas pela manhã, ou no centro cirúrgico do HIAS. Ou entrar em contato nos telefones: (85) 30477747, 31014226, 31014200. Se você tiver alguma dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Infantil Albert Sabin em horário comercial na rua Tertuliano Sales, 544. Vila União. Fortaleza. CE. CEP: 60410-790. Telefone (85) 31014200. (85) 31014226.

Assinatura do participante/representante legal (Rubricar as demais páginas)

Assinatura do pesquisador

Termo De Assentimento Do Menor Acima De 6 Anos (1ª via) - GERAL

- DO QUE SE TRATA?

Você está sendo convidado para participar da pesquisa “ANÁLISE PROTEÔMICA DE MATERIAIS BIOLÓGICOS DE NEUROCIRURGIA PEDIÁTRICA”. Seus pais serão consultados sobre sua participação nesta pesquisa. Queremos estudar o que tem de importante no tecido nervoso, no sangue e no líquido da cabeça.

- POR QUÊ EU FUI CONVIDADO?

A pesquisa será feita no HOSPITAL INFANTIL ALBERT SABIN-HIAS. E está programado de você realizar uma cirurgia neurológica: _____, e durante a cirurgia enquanto estiver dormindo os médicos irão colher exames de sangue, do líquido da cabeça e tecido nervoso como ocorre normalmente. Gostaríamos que você permitisse que um pouco destes materiais fosse estudados por nós. Esta pequena parte não fará falta para seu tratamento.

- QUEM IRÁ PARTICIPAR DESTA PESQUISA?

As crianças que irão participar dessa pesquisa têm de 1 mês de idade a 18 anos de idade. Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu não terá nenhum problema se desistir.

- O QUE ACONTECERÁ COMIGO?

Todas as crianças desta pesquisa, durante da cirurgia, estarão dormindo e não sentirão nada, durante a cirurgia pegaremos um pouco de líquidos normais do seu corpo e pedaço de tecido do corpo. Como foi tido, os médicos irão colher exames de sangue, do líquido da cabeça e tecido nervoso. Neste momento, pediremos um pouco deste material que não fará falta a você.

- O QUÊ EU GANHO COM ISSO?

Coisas boas que podem acontecer como os pesquisadores descobrirem exames laboratoriais de alguma forma de melhorar a vida dos pacientes que tem doença neurológica. Se caso necessite você e seus pais virem para o hospital pela pesquisa, nós daremos a seus pais dinheiro suficiente para transporte e alimentação.

- COMO VOU SABER O QUÊ ACONTECEU NOS MEUS EXAMES?

Ninguém saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da pesquisa vão ser publicados, mas sem identificar as crianças que participaram da pesquisa. Quando terminarmos a pesquisa, divulgaremos em revista científica. Os exames que serão feitos no hospital, você pode perguntar para seu médico da enfermaria.

- VOCÊ IRÁ PEGAR INFORMAÇÕES DO MEU PRONTUÁRIO E VÃO FAZER PERGUNTAS PARA MIM?

Como foi tido, ninguém saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Nós colheremos informações que estão no seu prontuário, antes e depois da cirurgia faremos perguntas simples para você. Tudo ficará em segredo.

- O QUÊ VOCÊS FARÃO COM O MATERIAL COLETADO?

O material biológico será guardado em freezer no laboratório do LAFICA localizado na Universidade de Federal do Ceará (UFC), no momento oportuno o material será descongelado e estudado. Este material poderá ser guardado por até 10 anos, depois será descartado.

- COM QUE FALO SE TIVER DÚVIDA, RECLAMAÇÕES OU ALGO ACONTECER?

Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar ou a pesquisador principal Dr. Carlos Eduardo Barros Jucá. Caso aconteça algo errado, você pode nos procurar: Dr. Carlos Eduardo Barros Jucá (CRM-12522) que pode ser encontrado no ambulatório de neurocirurgia do HIAS nas terça pela manhã, na enfermaria de neurologia do HIAS nas segunda, quarta ou sextas pela manhã, ou no centro cirúrgico do HIAS. Ou entrar em contato nos telefones: (85) 30477747, 31014226, 31014200. Se você tiver alguma dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Infantil Albert Sabin rua Tertuliano Sales, 544. Vila União. Fortaleza. CE. CEP: 60410-790. Telefone (85) 31014200. (85) 31014226.

Eu _____ aceito participar da pesquisa “ANÁLISE PROTEÔMICA DE MATERIAIS BIOLÓGICOS DE NEUROCIRURGIA PEDIÁTRICA”, que tem o objetivo: estudar o que tem de importante no tecido nervoso, no sangue e no líquido da cabeça. Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer. Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir, que ninguém vai ficar furioso. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis. Recebi uma cópia deste termo de assentimento e li e concordo em participar da pesquisa.

Fortaleza, ____ de _____ de _____.

Assinatura da criança Assinatura do participante/representante legal

Assinatura do pesquisador

Termo De Assentimento Do Menor Acima De 6 Anos (1ª via)- CONTROLE

- DO QUE SE TRATA?

Você está sendo convidado para participar da pesquisa "ANÁLISE PROTEÔMICA DE MATERIAIS BIOLÓGICOS DE NEUROCIRURGIA PEDIÁTRICA". Seus pais serão consultados sobre sua participação nesta pesquisa. Queremos estudar o que tem de importante no sangue e no líquido do tecido nervoso.

- POR QUE EU FUI CONVIDADO?

A pesquisa será feita no HOSPITAL INFANTIL ALBERT SABIN-HIAS. E está programado de você realizar uma cirurgia neste hospital (cirurgia: _____), você não nenhuma doença neurológica que necessite de cirurgia na cabeça. No momento, quando você estiver dormindo em anestesia geral e anestesia da coluna, para fazer cirurgia do umbigo para baixo, os médicos terão contato com o sangue e o líquido do tecido nervoso por motivo da cirurgia e da anestesia. Gostaríamos que você permitisse colher um pouco de sangue e líquido do tecido nervoso.

- QUEM IRÁ PARTICIPAR DESTA PESQUISA?

As crianças que irão participar dessa pesquisa têm de 1 mês de idade a 18 anos de idade. Você não precisa participar da pesquisa, se não quiser, é um direito seu, não terá nenhum problema se desistir.

- O QUE ACONTECERÁ COMIGO?

Todas as crianças desta pesquisa, durante da cirurgia, estarão dormindo e não sentirão nada. Durante a cirurgia enquanto estiver dormindo os médicos irão ter contato com sangue e líquido do tecido nervoso, como ocorre normalmente, este pouco material retirado não fará falta ao seu corpo.

- EXISTE ALGUM RISCO?

Existe o risco da cirurgia que você está programado a fazer. O risco da retirada destes materiais é mínimo, mas é possível ocorrer dor e inchaço. E estaremos disponíveis para resolver algum problema desta pesquisa.

- O QUÊ EU GANHO COM ISSO?

Coisas boas que podem acontecer como os pesquisadores descobrirem exames laboratoriais de alguma forma de melhorar a vida dos pacientes. Quando compararem o seu exame, que é normal, com crianças com doenças neurológicas, poderemos descobrir como melhorar a vida destas crianças doentes. Caso necessite, você e seus pais virem para o hospital; pela pesquisa, nós daremos a seus pais dinheiro suficiente para transporte e alimentação.

- O QUE FARÃO COM MEUS EXAMES?

Como foi dito, nós compararemos você que não tem doença neurológica com outras crianças que também estão participando do estudo que têm doença neurológica. Assim, descobriremos como podemos ajudar essas crianças doentes.

- COMO VOU SABER O QUÊ ACONTECEU NOS MEUS EXAMES?

Ninguém saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da pesquisa vão ser publicados, mas sem identificar as crianças que participaram da pesquisa. Quando terminarmos a pesquisa, divulgaremos em revista científica.

- VOCÊS IRÃO PEGAR INFORMAÇÕES DO MEU PRONTUÁRIO E VÃO FAZER PERGUNTAS PARA MIM?

Como foi dito, ninguém saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Nós colheremos informações que estão no seu prontuário, antes e depois da cirurgia faremos perguntas simples para você. Tudo ficará em segredo.

O QUÊ VOCÊS FARÃO COM O MATERIAL COLETADO?

O material biológico será guardado em freezer no laboratório do Nubex localizado na Universidade de Fortaleza (UNIFOR), no momento oportuno o material será descongelado e estudado. Este material poderá ser guardado por até 10 anos, depois será descartado.

- COM QUE FALO SE TIVER DÚVIDA, RECLAMAÇÕES OU ALGO ACONTECER?

Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar ou a pesquisador principal Dr. Carlos Eduardo Barros Jucá. Caso aconteça algo errado, você pode nos procurar: Dr. Carlos Eduardo Barros Jucá (CRM-12522) que pode ser encontrado no ambulatório de neurocirurgia do HIAS nas terças pela manhã, na enfermaria de neurologia do HIAS nas segundas, quartas ou sextas pela manhã, ou no centro cirúrgico do HIAS. Ou entrar em contato nos telefones: (85) 30477747, 31014226, 31014200.

Eu _____ aceito participar da pesquisa "ANÁLISE PROTEÔMICA DE MATERIAIS BIOLÓGICOS DE NEUROCIRURGIA PEDIÁTRICA", que tem o objetivo: estudar o que tem de importante no sangue e no líquido do tecido nervoso. Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer. Entendi que posso dizer "sim" e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer "não" e desistir, que ninguém vai ficar furioso. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis. Recebi uma cópia deste termo de assentimento e li e concordo em participar da pesquisa.

Fortaleza, ____ de _____ de _____.

Assinatura da criança Assinatura do participante/representante legal

Assinatura do pesquisador

APÊNDICE B – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

HOSPITAL INFANTIL ALBERT
SABIN - CE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE PROTEÔMICA DE MATERIAIS BIOLÓGICOS DE NEUROCIRURGIA PEDIÁTRICA

Pesquisador: washington aspilicuenta pinto filho

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 70145817.5.0000.5042

Instituição Proponente: Hospital Infantil Albert Sabin - CE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.314.838

APÊNDICE C – FICHÁRIO DE AVALIAÇÃO DO PACIENTE COM HIDROCEFALIA

FICHÁRIO DE AVALIAÇÃO HIDROCEFALIA (___/___/___):

NOME: _____ **RESP:** _____ **PRONT:** _____ **TEL:** _____ **IDADE:** _____
PESO: _____ **SEXO:** _____

DADOS CIRÚRGICOS: DVP () / revisão de DVP () / DVP externizada () / DVE (). Número de cirurgias anteriores: _____.
Posição: Frontal () / Parietal () / Occipital (). Retirada de sistema anterior N () S (). Coletado cateter com grumos? S () -
Marca: _____.
Tipo de DVP: Neonato () / Infantil () / Adulto (). Pressão: Alta () / Média () / Baixa (). Marca do material cirúrgico
atual: _____.
Complicações tardias anteriores: Infecção () / Hemorragia subdural crônica () / Obstrução () / Ventrículo em fenda () / Desalinha de
suturas () / Sem complicações (). Observações: _____.
Horário: _____. Cirurgião: _____.

PASSADO OBSTÉTRICO: Peso: ___ Estatura: ___ PC: ___ Fontanela anterior: Normal () / Tensa (). Pré-natal: Oligoâmnion ()
/ Polidrâmnion () / Macrocefalia () / Hidrocefalia <Comunicante () ou Não-comunicante ()>
TIPO DE HIDROCEFALIA: Fetal () / Infantil () / Associada a encéfalo-mielomeningocele () / Pós-hemorragia neonatal () /
Pós-meningite () / assoc Tumor () / <Comunicante () / Não-comunicante ()> // . Outro () .
Qual: _____.
COMORBIDADES: mielomeningocele () / Pós hemorragia do neonato () / Mal formação congênita () Qual: _____.
Observações: _____

DADOS CLÍNICOS: Sonolência () / Irritabilidade () / Vômitos () / Macrocefalia () / Convulsões () / Bradicardia ().
Tempo de evolução: _____. **PERÍMETRO CEFÁLICO:** _____ / **PRESSÃO INTRACRANIANA:** _____
ESCALA DE GLASCOW PEDIÁTRICA: _____. **ESCALA Pediatric Cerebral Performance Category (PCPC):** _____.
IMAGENS:US(___/___/___): _____.
TC (___/___/___): Septação () / Comunicante () / Não-comunicante () / Hemorragia () / Estenose de aqueduto ().
Índice Ventricular Evans: _____. Observações: _____.
Hemograma antes do procedimento: HT: ____ / Leuco: _____ (neutro _____, linf _____), Pla: _____, PCR: _____.
VHS: _____.
LIQUOR ANTERIOR (___/___/___): Conta células: _____. Hemácias: _____. Proteínas: _____.
Bactérias: _____. Cultura: _____.
LIQUOR INTRAOPERATÓRIO (___/___/___): Conta células: _____. Hemácias: _____. Proteínas: _____.
Bactérias: _____. Cultura: _____.

CHECK LIST DE COLETA INTRAOPERATÓRIO: LIQUOR CENTRIFUGADO ()-OK. SORO CENTRIFUGADO ()-OK. PLASMA

REAVALIAÇÃO CLÍNICA: TEMPO (___). Sonolência () / Irritabilidade () / Vômitos () / Macrocefalia () / Convulsões () / Bradicardia ().
Drenagem de DVE: _____ últimas 24hs.
ESCALA DE GLASCOW PEDIÁTRICA: _____. **ESCALA Pediatric Cerebral Performance Category (PCPC):** _____.
Hemograma após o procedimento: HT: ____ / Leuco: _____ (neutro _____, linf _____), Pla: _____, PCR: _____. VHS: _____.
Outros exames: _____.
CHECK LIST DE COLETA 2-5 DIAS PO: LIQUOR CENTRIFUGADO SE DVE ()-OK. SORO CENTRIFUGADO ()-OK. PLASMA CENTRIFUGADO ()-OK.

ALTA HOSPITALAR: DATA DE RETORNO (___/___/___). SEMANA: _____ TURNO: _____ AMBULATÓRIO: _____.
OBSERVAÇÕES: _____.

REAVALIAÇÃO AMBULATORIAL: TEMPO (___). Sonolência () / Irritabilidade () / Vômitos () / Macrocefalia () / Convulsões ().
Perímetro cefálico: _____.
ESCALA Pediatric Cerebral Performance Category (PCPC): _____.
Hemograma último (___/___): HT: ____ / Leuco: _____ (neutro _____, linf _____), Pla: _____, PCR: _____. VHS: _____. Outros
exames: _____.

APÊNDICE D – DADOS DO GRUPO CONTROLE E HIDROCEFALIA NÃO-TUMORAL

IDENTIFICAÇÃO	CIRURGIA REALIZADA	SEXO	IDADE EM ANOS	PESO EM KG
PACIENTE1	Herniorrafia inguinal e orquidopexia	M	2,5	17
PACIENTE2	Herniorrafia inguinal	M	5	17
PACIENTE3	Herniorrafia inguinal	M	1	10
PACIENTE4	Herniorrafia umbilical	F	11	43
PACIENTE5	Postectomia	M	14	60
PACIENTE6	PTC	F	1	10
PACIENTE7	PTC	M	1,6	10
PACIENTE8	Fechamento colostomia	F	1,7	10
PACIENTE9	Osteotomia	F	8	35
PACIENTE10	Fechamento colostomia	F	8	40
PACIENTE11	PTC	M	4	20
PACIENTE12	PTC	F	5	30

PTC: correção de pé torto congênito.

IDENTIFICAÇÃO	TIPO HIDROCEFALIA	COMUNICAÇÃO	SEXO	IDADE EM ANOS	PESO EM KG
PACIENTE1	MIELOMENINGOCELE	COMUNICANTE	F	4	16
PACIENTE2	INDEFINIDO	COMUNICANTE	M	1,6	10
PACIENTE3	INDEFINIDO	COMUNICANTE	F	1	10
PACIENTE4	INDEFINIDO	NÃO-COMUNICANTE	F	2,5	16
PACIENTE5	MIELOMENINGOCELE	COMUNICANTE	M	0,6	8
PACIENTE6	INDEFINIDO	COMUNICANTE	F	2	12
PACIENTE7	INDEFINIDO	COMUNICANTE	F	4	16
PACIENTE8	DANDY WALKER	NÃO-COMUNICANTE	M	0,5	9
PACIENTE9	POS-MENINGITE	COMUNICANTE	F	1,1	8,8
PACIENTE10	PÓS-MENINGITE	COMUNICANTE	M	5	17
PACIENTE11	PÓS-MENINGITE	COMUNICANTE	M	5	17
PACIENTE12	INDEFINIDO	COMUNICANTE	F	14	20
PACIENTE12	INDEFINIDO	COMUNICANTE	F	15	35
PACIENTE14	POS-MENINGITE	COMUNICANTE	M	0,7	12

APÊNDICE E – TRATAMENTOS DE NEUROCIRURGIA, RADIOTERAPIA E QUIMIOTERAPIA REALIZADOS

Tabela de procedimentos neurocirúrgicos realizados nos pacientes acometidos de hidrocefalia tumoral benigno e maligno:

Hidrocefalia tumoral	Tumor Cerebral	Derivações realizadas	Hematomas	Abordagens tumor	Abcesso cerebral	Tempo entre derivação e ressecção tumoral (dias)
Benigno	Papiloma de plexo coroide.	4	0	2	0	3
Benigno	Astrocitoma pilocítico grau I.	1	0	1	0	13
Benigno	Tumor intra-vascular, neurocitoma central, Grau I.	17	1	5	0	32
Benigno	Craniofaringioma adamantinomatoso.	3	0	1	0	21
Benigno	Ependimoma grau II.	3	0	1	0	29
Benigno	Ependimoma grau II.	5	0	1	0	3
Benigno	Astrocitoma pilocítico, Grau I.	8	0	1	0	35
Benigno	Astrocitoma pilocítico grau I.	1	0	1	0	7
Maligno	Meduloblastoma extensivamente nodular, Grau IV.	6	1	1	0	2
Maligno	Medulablastoma nodular/desmoplásico, grau IV.	5	0	1	0	6
Maligno	Glioblastoma grau IV.	1	0	2	0	64
Maligno	Meduloblastoma anaplásico.	1	0	1	0	2
Maligno	Pouco diferenciada meduloblastoma.	1	0	1	0	3
Maligno	Pinealoblastoma.	15	0	1	0	3

Tabela de tratamentos de quimioterapia e radioterapia utilizados:

	TUMOR CEREBRAL	CIRURGIA: tipos de ressecção	Revisão da quimioterapia	Ciclos quimioterapia	Radioterapia	Óbitos
Benigno	Papiloma de plexo coroide.	SUBTOTAL	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
Benigno	Astrocitoma pilocítico grau I.	TOTAL	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
Benigno	Tumor intra-vincular, neurocitoma central, Grau I.	PARCIAL	ACNS0423	Indução + manutenção (10 semanas).	SIM	NÃO
Benigno	Craniofaringioma adamantinomatoso.	SUBTOTAL	Interferon alfa 2b intracístico 3.000.000 UI	4 (1ciclo=3doses).	NÃO	NÃO
Benigno	Ependimoma grau II.	PARCIAL	Vimblastina 6,0mg/m2 semanal	1 ano- total.	NÃO	NÃO
Benigno	Ependimoma grau II.	TOTAL	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
Benigno	Astrocitoma pilocítico, Grau I.	PARCIAL	NÃO	NÃO	NÃO	SIM (16/12/2018)
Benigno	Astrocitoma pilocítico grau I.	TOTAL	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO
Maligno	Meduloblastoma extensivamente nodular, Grau IV.	PARCIAL	CCG9921	5 (indução=5 ciclos VCEC)	NÃO	SIM (14/04/2019)
Maligno	Meduloblastoma nodular/desmoplásico, grau IV.	TOTAL	ACNS032+VBL	Indução + manutenção	SIM	NÃO
Maligno	Glioblastoma grau IV.	PARCIAL	GLIOMA DE ALTO GRAU	Completo	SIM	SIM (21/09/2020)
Maligno	Meduloblastoma anaplásico.	TOTAL	ACNS032	Indução + manutenção	SIM	NÃO
Maligno	Pouco diferenciada meduloblastoma.	PARCIAL	NÃO	NÃO	NÃO	SIM (08/01/2019)
Maligno	Pinealoblastoma.	BIOPSIA	CCG9921	Indução + manutenção	NÃO	SIM (05/11/2019)

Protocolos utilizados:

- CCG9921= VCEC: D1(vincristina 0,05 mg/kg + etoposido 1,5 mg/kg/dia + cisplatina 3,5mg/kg), D2 e D3 (ciclofosfamida 55 mg/kg/dia + MESNA 55 mg/kg/dia + etoposido 1,5 mg/kg/dia) D8 e D15 (vincristina 1,5 mg/m²/dia).

- ACNS032= indução-> radioterapia combinado com quimioterapia: 7 semanas (D1-Vincristina 1,5 mg/m², D2a D5 (carboplatina 35mg/m²).

- ACNS032= manutenção 06 ciclos (ciclo= D1- Ciclofosfamida 1 g/m², D2- ciclofosfamida 1 g/m² + Vincristina 1,5 mg/m²).

- GLIOMA DE ALTO GRAU – adaptado do ensaio ACNS0423

ACNS0423= indução-> radioterapia combinado com quimioterapia: 6 semanas (temozolomida 90mg/m²/dia) de segunda a sexta, D1 a D5.

ACNS0423= manutenção: segunda a sexta, D1(Iomustina 90 mg/m² + temozolomida 90mg/m²/dia), D2 a D5 (temozolomida 90mg/m²/dia).

APÊNDICE F – DADOS DE PIC E LABORATORIAIS

Tabela: grupos de hidrocefalia tumoral benignos e maligno ordenados segundo da pressão intracraniana (PIC) em cmH₂O e valores de interleucinas (IL) em pg/ml, de proteína C reativa (PCR) em mg/L e de leucometria em /mm³.

	Agressividade do tumor	PIC	IL-6 LIQUOR	IL-6 PLASMA	IL-33 LIQUOR	IL-33 PLASMA	IL-18 LIQUOR	IL-18 PLASMA	IL-10 LIQUOR	IL-10 PLASMA	PCR	Leucometria
Hidrocefalia tumoral	Benigno	8	133,4289	62,25609	49,96792	223,8876	142,109	391,8728	7,778326	7,97659	3,13	5365
	Benigno	9	230,4827	62,25609	45,97741	46,30995	149,2001	556,5436	10,05836	15,60976	0,3	4501
	Benigno	10	469,8822	68,72634	46,97504	51,29809	143,6848	313,8709	13,62712	25,52297	0,3	15020
	Maligno	10	126,9586	146,3694	44,64724	56,95131	162,1406	220,5049	12,83406	12,23927	0,3	7180
	Benigno	11	249,8935	68,72634	112,8184	391,489	155,5033	466,3293	7,48093	23,73859	0,4	8496
	Benigno	15	159,3099	101,0776	46,97504	47,64012	137,7756	194,5042	12,73493	7,183534	3,23	5354
	Maligno	16	437,5309	191,6612	51,63063	769,2573	160,6246	318,2043	7,48093	23,73859	0,3	10090
	Benigno	17	178,7207	62,25609	47,30758	46,97504	159,8367	278,4154	6,687873	26,71255	130,8	2900
	Maligno	19	159,3099	94,60737	45,31232	92,20081	140,9271	182,2918	13,72625	10,55402	0,3	5490
	Benigno	21	405,1796	88,13711	46,30995	48,30521	162,5944	404,8732	8,075722	14,91583	3,23	10530
	Maligno	22	450,4714	81,66686	47,64012	321,6551	159,8367	393,4486	9,067043	7,48093	0,3	4747
	Benigno	23	308,1258	81,66686	50,633	402,4629	160,6246	257,5361	14,91583	10,45489	3,1	5411
	Maligno	24	185,1909	334,0068	47,97266	47,30758	144,0787	323,3257	18,18719	11,34708	0,3	9630
	Maligno	53	178,7207	68,72634	44,64724	52,9608	151,5638	279,5973	8,174854	9,067043	72,3	27100
Hidrocefalia não-tumoral		8	146,3694	114,0181	54,95606	558,4254	147,6243	320,962	8,967911	8,075722	0,3	6554
		9	249,8935	269,3043	44,3147	91,20319	149,594	328,0531	11,04968	28,99259	9,3	11050
		10	146,3694	94,60737	41,32181	63,60216	150,7759	237,4447	12,23927	12,93319	8,94	11020
		10	172,2504	126,9586	39,32656	41,32181	146,8364	324,9015	8,670515	7,183534	148,43	9550
		11	236,953	68,72634	50,633	137,7591	175,9886	356,4174	8,967911	9,959231	3,13	14800
		16	249,8935	94,60737	45,31232	222,5575	162,5944	328,0531	10,85142	11,94187	32,2	10410
		17	327,5366	249,8935	55,95368	108,4954	139,3513	357,9932	10,55402	10,65316	18,8	12400
		17	385,7689	114,0181	47,97266	61,27436	135,8058	263,0514	10,55402	10,65316	-	-
		18	469,8822	275,7745	43,31707	53,95843	150,3819	202,3832	17,19587	6,787005	3,23	7706
		18	204,6017	107,5479	41,65436	75,24115	159,0488	204,353	6,886137	8,273986	50,8	13160
		19	165,7802	728,6924	53,29334	186,3103	142,8969	212,6259	11,24795	9,067043	-	-
		22	249,8935	88,13711	48,97029	90,20556	138,1695	197,6558	14,91583	11,44621	3,13	8151
		23	159,3099	502,2335	48,63775	75,57369	147,6243	219,717	10,35576	11,34708	3,02	4877
		24	405,1796	88,13711	45,97741	66,59504	149,988	301,2645	8,373118	14,8167	5,1	10470
Controles			211,072	146,3694	44,64724	42,65198	142,109	216,1715	9,067043	6,390477		
			295,1853	152,8397	43,31707	226,2154	138,1695	194,1103	3,912176	6,787005		
			230,4827	217,5422	50,96555	197,6168	134,23	235,475	9,959231	5,894817		
			301,6555	114,0181	49,30283	94,86115	138,5635	231,1415	8,47225	8,174854		
			165,7802	172,2504	42,31944	130,7757	139,3513	276,8396	11,04968	9,860099		
			528,1145	94,60737	46,64249	159,7069	141,715	226,4141	11,04968	14,51931		
			495,7632	327,5366	45,64487	71,58318	136,5937	207,1106	15,90716	7,778326		
			249,8935	385,7689	47,30758	45,97741	139,3513	250,445	10,45489	7,877458		
			236,953	243,4232	45,97741	79,89674	138,5635	270,5365	19,17851	5,200892		

	165,7802	230,4827	42,98453	48,30521	145,6545	260,2938	9,959231	6,588741	
	198,1315	1136,318	45,31232	114,4812	139,3513	257,5361	8,47225	5,993949	
	262,834	139,8992	50,96555	104,8374	139,7453	208,2925	13,03233	5,795685	
	CONTROLE	BENIGNO	MALIGNO	NÃO-TUMORAL	P				
RAZÃO PLASMA/LIQUOR IL-6 (FRAÇÃO E DESVIO PADRÃO)	0,3279 ±0,1553	0,7590 ±0,6084	1,220 ±1,478	1,014 ±1,21	0,0166				
RAZÃO PLASMA/LIQUOR IL-33 (FRAÇÃO E DESVIO PADRÃO)	2,631 ±2,542	4,522 ±5,532	2,373 ±1,311	2,646 ±2,39	0,7857				
RAZÃO PLASMA/LIQUOR IL-18 (FRAÇÃO E DESVIO PADRÃO)	2,365 ±0,7878	1,864 ±0,4680	1,694 ±0,1896	1,839 ±0,39	0,2060				
RAZÃO PLASMA/LIQUOR IL-10 (FRAÇÃO E DESVIO PADRÃO)	1,841 ±1,201	1,242 ±0,9602	0,7942 ±0,3998	1,120 ±0,52	0,0445				

ANEXO A – TABELAS DE *GLASGOW* E PCPC

Tabela avaliação neurológica escala de *Glasgow* em pediatria:

Escala de Glasgow Pediátrica			
Medida	Criança > 1 ano	Criança < 1 ano	Escore
Abertura dos olhos (AO)	Espontaneamente	Espontaneamente	4
	Ao comando	A fala	3
	A dor	A dor	2
	Nenhuma resposta	Nenhuma resposta	1
Resposta Verbal (RV)	Orientada	Sorri, orientada	5
	Desorientada	Choro, consolável	4
	Palavra inapropriada	Choro persistente, gemente	3
	Sons incompreensíveis	Agitada e inquietação	2
	Nenhuma resposta	Nenhuma resposta	1
Resposta Motora (RM)	Obedece a comandos		6
	Localiza a dor	Localiza a dor	5
	Flexão a dor	Flexão à dor	4
	Flexão anormal à dor	Flexão anormal a dor	3
	Extensão anormal à dor	Extensão anormal a dor	2
	Nenhuma resposta	Nenhuma resposta	1
Escores totais normais	< 6 meses 6-12 meses 1-2 anos 2-5 anos > 5 anos		13 13 14 15 15

Flexão anormal à dor: decorticação.

Extensão anormal à dor: descerebração.

FONTES: GIUGNO, K. M. et al. [Treatment of intracranial hypertension]. *J Pediatr (Rio J)*, v. 79, n. 4, p. 287-96, Jul-Aug 2003. ISSN 0021-7557 (Print) 0021-7557 (Linking).

Tabela de escores de avaliação cerebral segundo *Pediatric Cerebral Performance Category* (PCPC).

Escore	Categoria	Característica clínica
1	Normal	Normal e apropriado para a idade da criança
2	Desabilidade média	Consciente, alerta e capaz de interagir com o meio, entando muitos têm um déficit neurológico prévio leve
3	Desabilidade moderada	Consciente, função cerebral suficiente para a idade e suas atividades independentes são adequadas do dia-a-dia
4	Desabilidade severa	Consciente, porém depende de terceiros para as atividades diárias pelo seu déficit neurológico atual
5	Coma ou estado vegetativo	Qualquer grau de coma mas sem nenhum dos critérios para morte encefálica. Inconsciente, mesmo que aparente estar desperto. Sem interação com o ambiente e ausência de resposta cerebral. Nenhuma evidência de função cortical e não despertável por estímulos verbais. Possivelmente algumas respostas reflexas, abertura espontânea dos olhos e / ou ciclos de sono-vigília.
6	Morte encefálica	Apnéia. Arreflexia. Silêncio eletroencefalográfico.

Adaptado ao português brasileiro pelo próprio autor.

FONTES: FISER, D. H. Assessing the outcome of pediatric intensive care. *J Pediatr*, v. 121, n. 1, p. 68-74, Jul 1992. ISSN 0022-3476 (Print) 0022-3476 (Linking).