
PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL - PUCRS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
MESTRADO EM PEDIATRIA E SAÚDE DA CRIANÇA

**AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO E FUNÇÃO
SURFATANTE ATRAVÉS DE TESTES DE
MATURIDADE PULMONAR NO ASPIRADO
GÁSTRICO DE RECÉM-NASCIDOS A TERMO
COM TAQUIPNÉIA TRANSITÓRIA**

LIANE UNCHALO MACHADO

Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Medicina da PUCRS para
obtenção de título de Mestre em Saúde da
Criança

Orientador: Prof. Dr. Renato Machado Fiori

Porto Alegre, 2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

M149a Machado, Liane Unchalo

Avaliação da produção e função surfactante através de testes de maturidade pulmonar no aspirado gástrico de recém-nascidos a termo com taquipnéia transitória / Liane Unchalo Machado. Porto Alegre: PUCRS, 2009.

106f.: il. tab.

Orientador: Prof. Dr. Renato Machado Fiori.

Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Curso de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança. Mestrado em Saúde da Criança.

1. SURFACTANTES PULMONARES. 2. MICROBOLHAS. 3. TESTES DE FUNÇÃO RESPIRATÓRIA. 4. RECÉM-NASCIDO. 5. ESTUDOS DE CASOS E CONTROLES. I. Fiori, Renato Machado. II. Fiori, Humberto Holmer. II. Título.

C.D.D.618.92011

C.D.U. 612.24-053.31:616-008.2(043.3)

N.L.M. WF 600

Rosária Maria Lúcia Prena Geremia
Bibliotecária CRB 10/196

MESTRANDA: Liane Unchalo Machado

ENDEREÇO: - Rua Barão do Gravataí, 744 – Ap. três - Bairro: Menino Deus

Porto Alegre – RS

TELEFONE: (51) 91177556

E-mail: liane.unchalo@terra.com.br

COREN: 69701

CONFLITO DE INTERESSES: NENHUM

Dedicatória

Para minha família pelo carinho e incentivo constantes.

AGRADECIMENTOS

Em especial, ao meu orientador, Dr. Renato Fiori pela sua paciência, dedicação e sabedoria.

Ao Dr. Humberto Fiori pelo incentivo e atenção.

Aos Médicos, Pacientes, Enfermeiras e Técnicas de Enfermagem do Hospital Moinhos de Vento e do Hospital São Lucas da Puc que auxiliaram na coleta dos aspirados gástricos. Em especial a colega Ana Lori Schnorr, Andréa Wolkmer, Vanda Muller, Ligia Scherer, Andréia Amorim e Márcia Othero Sanches pelo carinho e colaboração.

À Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) por realizar este curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela oportunidade de concluir o mestrado como bolsista.

Ao Laboratório de Hematologia do Hospital São Lucas da Puc, pelo suporte para a realização das contagens dos corpos lamelares.

À Dr^a. Beatriz Porto pelo incentivo e carinho.

À Dr^a. Inah W. Daniel e à Enf^a Ana Cláudia Vieira pelo auxílio na análise dos corpos lamelares.

Às secretárias Carla Rothmann e Ana Clara Cardoso pelo carinho e atenção dispensadas.

À todos aqueles que deixei de citar, mas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

| | |
|-----------------------------------|-------------|
| LISTA DE FIGURAS..... | xi |
| LISTA DE TABELAS..... | xii |
| LISTA DE ABREVIATURAS..... | xiii |
| RESUMO | xv |
| ABSTRACT | xvi |

CAPÍTULO I

| | |
|---|-----------|
| 1 REFERENCIAL TEÓRICO..... | 2 |
| 1.1 Introdução | 2 |
| 1.1.1 Taquipnéia Transitória do Recém-Nascido | 2 |
| 1.1.2 Desconforto Respiratório Mal Definido..... | 6 |
| 1.1.3 Sistema Surfatante..... | 7 |
| 1.1.4 Testes de Avaliação da Maturidade Pulmonar..... | 11 |
| 1.1.5 Teste das Microbolhas Estáveis..... | 12 |
| 1.1.6 Contagem de Corpos Lamelares | 18 |
| 1.2 JUSTIFICATIVA | 24 |
| 1.3 OBJETIVOS..... | 26 |
| 1.3.1 Objetivo geral..... | 26 |

| | |
|-----------------------------------|-----------|
| 1.3.2 Objetivos específicos | 26 |
| 1.4 REFERÊNCIAS | 27 |

CAPÍTULO II

| | |
|--|-----------|
| 2 METODOLOGIA..... | 39 |
| 2.1 Delineamento do Estudo | 39 |
| 2.2 População e Amostra | 40 |
| 2.2.1 Critérios de Inclusão | 41 |
| 2.2.2 Critérios de Exclusão | 41 |
| 2.2.3 Critérios para Diagnóstico de Taquipnéia Transitória do Recém-nascido (Grupo 1)..... | 43 |
| 2.2.4 Critérios para Diagnóstico de Síndrome do Desconforto Respiratório do Recém-nascido (Grupo 2) | 43 |
| 2.2.5 Critérios para Diagnóstico de Desconforto Respiratório Mal Definido do Recém-nascido (Grupo 3) | 44 |
| 2.2.6 Critérios para Diagnóstico no Grupo Controle (Grupo 4) | 44 |
| 2.2.7 Variáveis Principais | 45 |
| 2.2.7.1 Variáveis de Caracterização da Amostra..... | 45 |
| 2.2.7.2 Variáveis de Desfecho | 46 |
| 2.2.7.3 Operacionalização das Variáveis..... | 46 |
| 2.3 Coleta do Material..... | 48 |
| 2.3.1 Material Necessário | 49 |
| 2.3.2 Testes das Microbolhas Estáveis..... | 49 |

| | |
|--|-----------|
| 2.3.3 Contagem de Corpos Lamelares (CCL)..... | 51 |
| 2.3.3.1 Contador automático de células (Sysmex XT-1800)..... | 52 |
| 2.4 Análise Estatística | 53 |
| 2.5 Aspectos Éticos..... | 54 |
| 2.6 Referências | 56 |

CAPÍTULO III

| | |
|-------------------------------|-----------|
| 3 Artigo Original..... | 58 |
| 3.1 Página de rosto | 58 |
| 3.2 Introdução | 61 |
| 3.3 Pacientes e Métodos..... | 64 |
| 3.4 Resultados | 67 |
| 3.5 Discussão..... | 72 |
| 3.6 Referências | 76 |

CAPÍTULO IV

| | |
|--------------------------|-----------|
| 4 CONCLUSÃO | 83 |
|--------------------------|-----------|

ANEXOS

| | |
|--|----|
| Anexo 1 – Consentimento Pós-Informação | 86 |
| Anexo 2 – Comitê de Ética em Pesquisa e Comissão Científica do Hospital Moinhos de Vento..... | 87 |
| Anexo 3 – Comitê de Ética em Pesquisa e Comissão Científica do Hospital São Lucas da PUCRS | 88 |
| Anexo 4 – Ficha de Acompanhamento e Controle Clínico..... | 89 |
| Anexo 5 – Diagnóstico Radiológico..... | 91 |
| Anexo 6 – Avaliação do Aspirado Gástrico | 92 |

APÊNDICE

| | |
|---|-----|
| Apêndice 1 – Planilha de coletas de dados - Controle | ii |
| Apêndice 2 – Planilha de coletas de dados - Casos..... | iii |

LISTAS DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1** - Alvéolos com e sem surfactante, evidenciando a tendência ao colapamento alveolar naquele sem surfactante no qual a tensão superficial é maior (adaptado de Goldsmith e Karotkin)..... 8
- Figura 2**- Ciclo de vida do surfactante pulmonar (Adaptado de: Zimmermann et al.).....9
- Figura 3**- Teste das Microbolhas Estáveis 13
- Figura 4**- Ciclo de vida do surfactante pulmonar 19

CAPÍTULO II

- Figura 1** – Aparelho contador hematológico de células Sysmex XT 1800i 52
-

LISTAS DE TABELAS

CAPÍTULO III

- Tabela 1** – Características dos pacientes com o diagnóstico inicial de taquipnéia transitória e dos controles 68
- Tabela 2** – Contagem comparativa de corpos lamelares e microbolhas estáveis em recém-nascidos com TTRN e controles..... 70
- Tabela 3** – Comparação da contagem de corpos lamelares e de microbolhas estáveis de acordo com o tempo em oxigênio (mais ou menos de 24 a de 48 horas) e FiO_2 máximo utilizado (mais ou menos de 0.40)..... 71
-

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|------------------------|--|
| AG | Aspirado Gástrico |
| ANOVA | Análise de Variância |
| CCL | Contagem de Corpos Lamelares |
| CL | Corpos Lamelares |
| CPAP | <i>Continuous Positive Airway Pressure</i> (Pressão Positiva Contínua nas Vias Aéreas) |
| DM | Diabetes Mellitus |
| DMH | Doença da Membrana Hialina |
| DP | Desvio Padrão |
| DR | Disfunção Respiratória |
| DRMD | Doença Respiratória Mal Definida |
| DTT | Dithiothreitol |
| FiO₂ | Fração de Oxigênio Inspirado |
| HSL | Hospital São Lucas |
| IC | Intervalo de Confiança |
| IG | Idade Gestacional |
| L/E | Lecitina/esfingomielina |
| LA | Líquido Amniótico |
| Mbe | Microbolhas Estáveis |
| μl | Microlitro |
| OMS | Organização mundial da Saúde |
| PN | Peso de Nascimento |
| PUCRS | Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul |

| | |
|-------------|---|
| RNPT | Recém-Nascido Prematuro |
| RNT | Recém-nascido a Termo |
| SDR | Síndrome do Desconforto Respiratório |
| SP-A | Proteína A do Surfactante |
| SP-B | Proteína B do Surfactante |
| SP-C | Proteína C do Surfactante |
| SPD | Proteína D do Surfactante |
| TME | Testes das Microbolhas Estáveis |
| TTRN | Taquipnéia Transitória do Recém-Nascido |
| VM | Ventilação Mecânica |

RESUMO

INTRODUÇÃO: Taquipnéia transitória do recém-nascido (TTRN) é uma causa freqüente de dificuldade respiratória nos primeiros dias de vida e tem sido atribuída, basicamente, a um retardo na absorção do líquido pulmonar fetal. Tem sido levantada suspeita de que uma deficiência ou disfunção do sistema surfatante esteja envolvida na patogênese da doença.

OBJETIVO: Quantificar os corpos lamelares e a função surfatante, no aspirado gástrico de recém-nascidos a termo, nascidos de parto cesáreo, com diagnóstico clínico inicial de taquipnéia transitória, através da contagem destes corpos e do teste das microbolhas estáveis (TME).

MÉTODOS: Foi realizado um estudo caso-controle incluindo 42 pacientes com idade gestacional ≥ 37 semanas de gestação (21 com diagnóstico clínico inicial de TTRN e 21 sem disfunção respiratória), todos nascidos de parto cesáreo, tendo sido feito nestes recém-nascidos aspirado gástrico nos primeiros minutos de vida para a CCL e para o TME. Os pacientes com dificuldade respiratória foram seguidos clinicamente para avaliação da gravidade do quadro respiratório. A dificuldade técnica na feitura da CCL, devido à consistência espessa da secreção gástrica, foi superada pelo uso de um fluidificante (dithiothreitol).

RESULTADOS: Os pacientes com TTRN e controles eram comparáveis no que se refere ao peso ao nascer, idade gestacional, sexo e escore de Apgar. Na comparação entre os grupos a contagem dos corpos lamelares e das microbolhas estáveis foi significativamente menor no grupo com TTRN (CCL $68.000 \pm 56.000/\mu\text{L}$ x $129.000 \pm 72.000/\mu\text{L}$ – $p=0,004$ e TME 48 ± 39 x 81 ± 33 microbolhas/ mm^2 – $p=0,013$). Os recém-nascidos com TTRN que ficaram mais de 24 horas após o nascimento em oxigênio tiveram uma CCL significativamente mais baixa que os que ficaram menos de 24 horas em oxigênio (41.000 ± 25.000 x 104.000 ± 66.000 – $p=0,029$). Quando o ponto de corte foi de 48 horas o valor de p foi 0,055. Com relação ao TME observou-se diferença significativa apenas no ponto de corte de 48 horas (28 ± 31 x 56 ± 39 microbolhas/ mm^2 – $p=0,047$).

CONCLUSÕES: Os dados sugerem que recém-nascidos a termo com TTRN têm uma baixa produção de corpos lamelares associada, a uma reduzida função surfatante, e que quanto maiores forem estas alterações maior chance da criança ter uma doença mais prolongada.

DESCRITORES: Taquipnéia transitória do recém-nascido, Surfatante pulmonar, Teste das microbolhas estáveis, Contagem de corpos lamelares, recém-nascidos.

ABSTRACT

BACKGROUND: Transient tachypnea of the newborn (TTN) is a frequent cause of respiratory distress in the first days of life and has been attributed, basically, to a delay of absorption of lung fetal fluid. It has been suspected that surfactant deficiency plays a role in the pathogenesis of the disease.

OBJECTIVE: The objective of this study was to quantify lamellar bodies and to evaluate surfactant function in gastric aspirates of term newborn infants, born through cesarean section, with the initial clinical diagnosis of TTN, through the lamellar body count (LBC) and the stable microbubble test (SMT).

METHODS: It was performed a case-control study in 42 patients with gestational age ≥ 37 weeks (21 with initial clinical diagnosis of TTN, and 21 without respiratory distress), all born of cesarean section, being done in these newborns gastric aspirate for LBC and SMT in the first minutes of life. The patients with respiratory distress were followed clinically to evaluate the severity of the respiratory distress. The technical difficulty to perform the LBC, due to the thickness of the gastric fluid was overcome by the use of a fluidifying agent (dithiothreitol).

RESULTS: The patients with TTN and controls were comparable as far as birth weight, gestational age, gender and Apgar score. When comparing the groups the LBC and the stable microbubbles were significantly lower in the TTN group (LBC $68,000 \pm 56,000/\mu\text{L}$ x $129,000 \pm 72,000/\mu\text{L}$ – $p=0.004$ e SMT 48 ± 39 x 81 ± 33 microbubbles/ mm^2 – $p=0.013$).

The newborn infants with TTN who stayed more than 24 hours after birth in oxygen had a LBC significantly lower than the infants who stayed less than 24 hours in use of oxygen ($41,000 \pm 25,000$ vs. $104,000 \pm 66,000$ - $p=0.029$). When the cutoff point was 48 hours the p value was 0.055. As far as the SMT it was observed a significant difference only with the cutoff point of 48 hours. (28 ± 31 x 56 ± 39 microbubbles/ mm^2 - $p=0.047$).

CONCLUSIONS: The data suggest that term newborn infants with TTN have low production or/and destruction of lamellar bodies associated to decreased surfactant function and that the more significant are these alterations more chances will have the infant of a more prolonged disease.

KEY WORDS: Transient tachypnea of the newborn, Pulmonary surfactant, Stable microbubble test, Lamellar body count.

CAPÍTULO I

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 INTRODUÇÃO

1.1.1 Taquipnéia Transitória do Recém-nascido

Taquipnéia transitória do recém-nascido (TTRN) é freqüentemente diagnosticada como uma causa de desconforto respiratório (DR) nos primeiros dias de vida. A TTRN foi descrita primeiramente por Avery et al, em 1966.¹ Os recém-nascidos com essa síndrome apresentam graus variados de taquipnéia, podendo também apresentar outros sinais de dificuldade respiratória tais como batimento de asas nasais, retrações subcostais e intercostais, gemido expiratório. Estes recém-nascidos geralmente necessitam de concentrações baixas de oxigênio (usualmente uma $FiO_2 < 0,40$) para manter uma saturação adequada do sangue arterial. Crepitações não são freqüentes. Os sintomas costumam persistir por dois a cinco dias. Os sinais radiológicos característicos encontrados na TTRN são: aumento da trama vascular central, hiperinsuflação,

evidência de líquido intersticial e pleural, cissuras interlobares proeminentes e cardiomegalia.

A incidência de TTRN é de aproximadamente 1% dos recém-nascidos vivos.¹ Em um estudo foi descrito que a TTRN e a síndrome do desconforto respiratório do recém-nascido eram inversamente relacionadas ao peso e a idade gestacional e diretamente relacionada ao aumento da incidência de doenças maternas, como diabetes.² Fatores de risco descritos incluem prematuros limítrofes^{3,4} parto cesáreo.^{3,4,5} sem trabalho de parto, sedação materna e asfixia perinatal moderada,^{1,6} asma materna,⁷ exposição a agentes betamiméticos policitemia e hipervolemia.^{5,8} Um outro estudo mostrou uma incidência maior em meninos (1,4%), prematuros (7,6%), cesárea eletiva (1,5%), cesárea de urgência (4,2%) e uso de fórceps (3,8%).⁹ Foi também observada uma relação entre cesarianas eletivas com um aumento da incidência de TTRN^{9,10,11,12,13}. O trabalho de parto reduziria a incidência de TTRN principalmente pelo estímulo das catecolaminas levando a um aumento da reabsorção do líquido pulmonar e preservação do sistema surfactante.⁹ A absorção do líquido pulmonar fetal é reconhecidamente dependente dos níveis de catecolaminas, que podem estar mais baixos nos nascidos sem trabalho de parto.^{14,15} Greenough et al evidenciaram que, ao atraso na absorção de líquido pulmonar nos recém-nascidos com TTRN, associava-se significativa diminuição nos níveis de noradrenalina, mas não nos de adrenalina, principalmente nos partos cesáreos sem trabalho de parto ou cesáreas eletivas.¹⁶ A alta frequência

de partos cesáreos (50%) encontrada na TTRN prolongada concorda¹⁷ com as observações de Wesenberg et al e com estudos patológicos em animais, que sugerem um atraso na absorção do fluido pulmonar logo após o nascimento por cesariana.^{3,18}

A TTRN tem sido atribuída a um retardo na reabsorção do líquido pulmonar fetal, ocorrendo uma distensão do espaço intersticial e aprisionamento do ar.^{8,10} Contudo, há algumas evidências de que uma disfunção ou deficiência da produção do surfatante pulmonar esteja associada a esta síndrome.

Baixos níveis de fosfatidilglicerol no fluido pulmonar^{19,20} e no líquido amniótico²¹ foram encontrados em pacientes com TTRN. Níveis baixos de fosfatidilcolina e fosfatidilinositol também foram observados.²⁰

Penn et al, analisaram a presença de fosfatidilglicerol (FG) e a relação lecitina/esfingomielina(L/E), definindo uma relação $L/E < 2$ e um FG negativo como indicativo de deficiência de surfactante (pulmão imaturo), uma $L/E \geq 2$ um FG negativo como indicativo de imaturidade parcial e uma relação $L/E \geq 2$ e um FG positivo como indicativo de maturidade pulmonar.²² Seis dos recém-nascidos com imaturidade parcial não desenvolveram dificuldade respiratória após o nascimento e sete desenvolveram TTRN, necessitando de tratamento em unidade de tratamento intensivo neonatal. Os caracterizados como tendo pulmão maduro não desenvolveram desconforto respiratório e os com pulmão imaturo desenvolveram SDR. Assim, uma relação $L/E \geq 2$ não exclui a

possibilidade de desconforto respiratório se o fosfatidilglicerol estiver ausente.

James et al²⁴ observaram associação entre TTRN e deficiência de fosfolípido (fosfatidilcolina, fosfatidilglicerol) em secreção gástrica²⁷ e líquido amniótico.²⁴ Sugeriram que esta deficiência poderia ser secundária ao acúmulo de fluido, danificando o epitélio alveolar. A anormalidade do sistema surfactante, porém, poderia ser um problema primário, como sugerido por Staub, pois a falta de surfactante aumenta a tensão de superfície alveolar e assim causa edema pulmonar.²⁵ Talvez esta última possibilidade caracterize um grupo de recém-nascidos nos quais a principal manifestação de deficiência de surfactante seja acúmulo de fluido pulmonar, e não atelectasias, e o diagnóstico seja TTRN, e não SDR. As atelectasias não são os achados dominantes porque seus pulmões já conseguiram um nível de maturidade pulmonar, e a presença de líquido pulmonar poderia prevenir os colapsos alveolares.

Há relato também de aumento da frequência de testes do “click” negativos no aspirado traqueal e gástrico de pacientes com TTRN²⁶ e em nossa instituição foi observada uma redução na contagem de microbolhas estáveis no aspirado gástrico destes pacientes, sugerindo uma disfunção do sistema surfactante associada a esta síndrome.²⁷

1.1.2 Desconforto Respiratório Mal Definido

Freqüentemente os neonatologistas vêem-se diante de quadros de dificuldade respiratórios intermediários entre TTRN e SDR. São recém-nascido pré-termo que apresentam um raio-x não característico de nenhuma das duas síndromes. Às vezes o raio-x inicial sugere TTRN, mas posteriormente vem a mostrar um retículo-granulado que sugere o diagnóstico de SDR. Outras vezes, apesar de apresentarem um raio-x de TTRN, a evolução é similar à de uma SDR, sendo o quadro respiratório prolongado com necessidade de altas concentrações de oxigênio inspirado e, às vezes, pressão positiva contínua e/ou ventilação mecânica. Alguns denominam estes quadros de TTRN grave e outros SDR moderada.

Após a descrição do quadro clínico de TTRN por Avery et al,¹ um grupo de pesquisadores de Nashville publicou 36 casos de recém-nascidos com dificuldade respiratória precoce com características radiológicas diferentes da SDR, denominado de SDR tipo II.²⁸ Metade dos recém-nascidos necessitaram de oxigênio. Ao raio-x predominavam os achados de hiperinsuflação pulmonar, estrias broncovasculares partindo do hilo e, menos freqüentemente, uma infiltração nodular. A cissura entre os lobos superior e médio, a direita era freqüentemente visível.

Chama a atenção neste estudo à intensidade e a variabilidade da intensidade e da duração do quadro respiratório. Os autores atribuíram a síndrome a uma obstrução das vias aéreas baixas por incapacidade do recém-

nascido de limpar as vias aéreas de muco e outros debris acumulados antes do início da respiração.

1.1.3 Sistema Surfatante:

O termo surfatante deriva da palavra inglesa "surfactant", forma reduzida de "surface active agent". Uma substância surfatante é aquela capaz de reduzir a tensão superficial. Como exemplo de substâncias com atividade surfatante estão os detergentes, as gorduras e os sabões, que são substâncias anfipáticas, ou seja, apresentam um pólo hidrofílico e outro hidrofóbico. No caso da água, a tensão superficial é a força gerada pelas pontes de hidrogênio entre as moléculas de H₂O na monocamada da superfície em contato com o ar. As pontes de hidrogênio formam uma película na superfície da água de maneira que os objetos que exercem forças menores que a tensão superficial ficam sobre a superfície sem se molhar. A água não pode produzir bolhas de ar estáveis, pois possui uma tensão superficial muito elevada. Entretanto, se misturarmos um pouco de detergente à água diminui a tensão superficial obtendo-se, então, bolhas estáveis.^{29,30}

Em 1929, Von Neergaard observou que eram necessárias pressões

muito elevadas para manter os pulmões inflados com ar ao invés de líquido, mostrando assim o importante papel da tensão superficial na função pulmonar.⁶⁵ O surfatante pulmonar é um dos mais potentes surfatante conhecidos, atua na interface ar-líquido e tem como característica a capacidade de diminuir a tensão superficial a quase zero. Durante a inspiração ele promove o recrutamento alveolar uniforme, reduzindo o gradiente pressórico entre interstício e alvéolo, constituindo um sistema essencial para que ocorra uma efetiva ventilação e troca gasosa. Essa tensão superficial mínima é essencial para a diminuição das forças que causam o colapso alveolar no final da expiração.^{29,30}

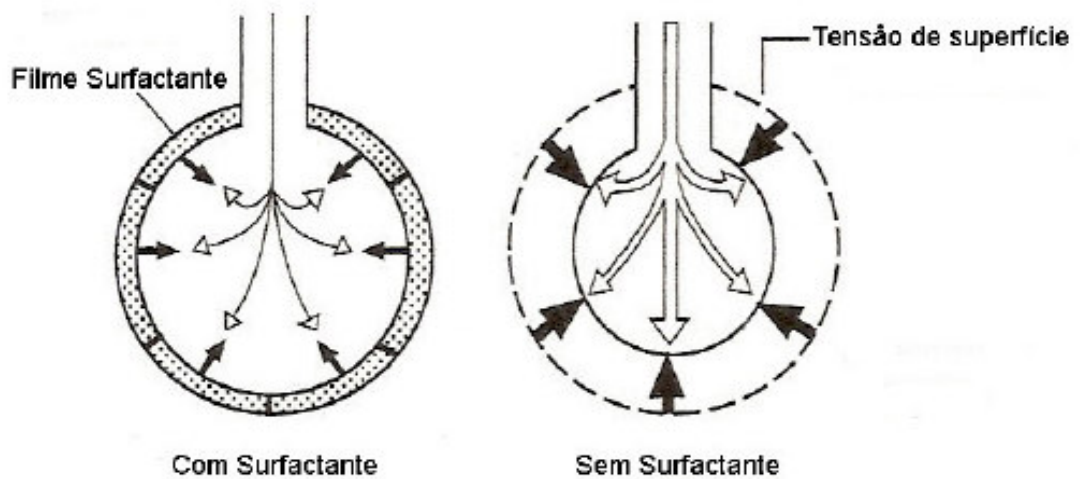
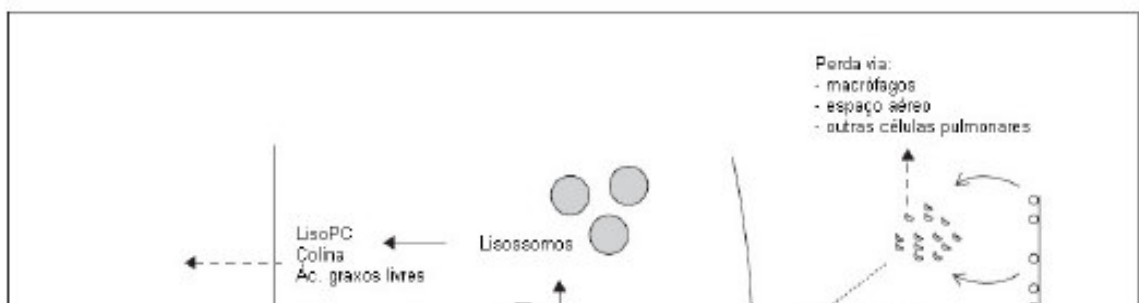


Figura 1: Alvéolos com e sem surfactante, evidenciando a tendência ao colapamento alveolar naquele sem surfactante no qual a tensão superficial é maior (adaptado de Goldsmith e Karotkin⁴⁴)



O surfatante é produzido por células alveolares (pneumócitos) do tipo II e é agrupado e estocado nos corpos lamelares.^{31,32} O surfatante pulmonar é composto de 80-90% de fosfolípidios (principalmente por fosfatidilcolina e fosfatidilglicerol), e, ainda, por proteínas específicas do surfatante e outros lípidios. Depois de sintetizado nos pneumócitos tipo II, o surfatante é organizado e armazenado nos corpos lamelares para posterior excreção para o espaço alveolar.

Os corpos lamelares (CL) são organelas osmiofílicas com composição

muito similar ao surfatante.^{32,33} Aparecem primeiramente no citoplasma dos pneumócitos tipo II fetais entre 20 e 24 semanas de gestação, tornam-se mais numerosos e são continuamente secretados no alvéolo fetal.³³

As proteínas que compõe o surfactante são quatro: Proteína A (SP-A), Proteína B (SP-B), Proteína C (SP-C), e Proteína D (SP-D). A SP-B e SP-C atuam na redução da tensão superficial alveolar e são hidrofóbicas. As demais possuem características hidrofílicas e apresentam propriedades imunomodulatórias.^{66,67,68}

Os movimentos respiratórios fetais carregam os corpos lamelares presentes no alvéolo para o líquido amniótico (LA).³⁴ O feto deglute este líquido. Deste modo, o conteúdo gástrico desses recém-nascidos contém também corpos lamelares, podendo-se estimar assim, pela sua contagem, a quantidade de surfactante produzida pelos pulmões.³⁵

Durante o estágio sacular do desenvolvimento pulmonar (entre 24 e 38 semanas de gestação), quantidades crescentes de mielina tubular (a forma secretora de surfatante pulmonar) são encontradas nos espaços aéreos.³⁶

1.1.4 Testes de Avaliação da Maturidade Pulmonar

No intuito de prever a maturidade pulmonar no feto e no recém-nascido foram desenvolvidos vários testes diagnósticos. A maioria é realizada no líquido amniótico (LA), sendo feitos para identificar maturidade pulmonar fetal quando há interesse na interrupção precoce da gestação.

Alguns testes avaliam a função do surfatante, como, por exemplo, o teste de Clements, o teste do “click” e o teste das microbolhas estáveis (TME). Outros testes baseiam-se na presença de componentes no sistema surfatante, como a relação entre lecitina e esfingomielina, as dosagens de fosfatidilglicerol, de fosfatidilcolina saturada ou de proteínas específicas do surfatante, o teste de fluorescência de polarização automatizada e a contagem de corpos lamelares (CCL). Alguns destes testes têm custo elevado, podem demandar algumas horas para serem realizados ou necessitar aparelhagem sofisticada e pessoal treinado. Entre os testes mais simples e rápidos estão o TME e a CCL.

1.1.5 Teste das Microbolhas Estáveis

O teste das microbolhas estáveis (TME) é um teste biofísico para avaliar

a deficiência de surfactante. Foi desenvolvido por Pattle et al,³⁷ sendo um teste rápido, simples e reprodutível, podendo ser realizado no líquido amniótico ou no aspirado gástrico ou no traqueal .Esse teste é facilmente realizado com um pequeno volume de material. Depende da capacidade de um líquido com surfactante de formar bolhas estáveis de pequeno diâmetro. Tipicamente, em uma gota, as bolhas desaparecem em 30 segundos ou menos, ou podem permanecer estáveis por mais tempo. Estas últimas são chamadas de microbolhas estáveis. A estabilidade das bolhas depende da propriedade do surfactante de reduzir a tensão de superfície para uma pequena fração de seu valor de equilíbrio. A ausência de microbolhas estáveis sugere um alto risco de problemas respiratórios para o neonato.

O teste das microbolhas estáveis foi desenvolvido por Pattle et al., em 1979.³⁷ Este teste passou a ser olhado com mais interesse recentemente, na era da terapia com surfatante, depois da observação de que a terapia muito precoce ou o uso profilático eram associados a um melhor prognóstico. O teste foi recentemente usado na seleção de pacientes para a profilaxia com surfactante.³⁵

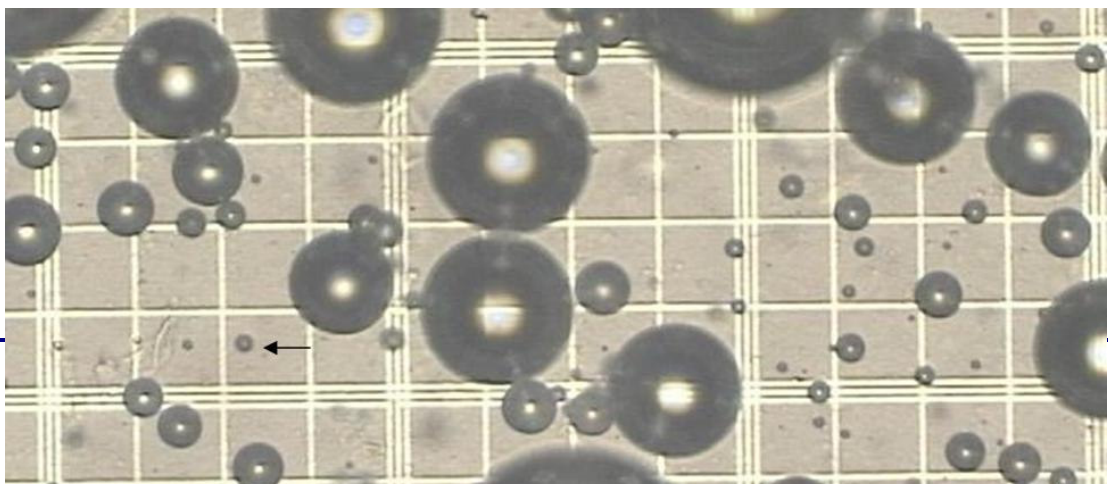


FIGURA 3: Teste das Microbolhas Estáveis

Logo após o nascimento, podemos determinar os Rns predispostos a desenvolver quadro clínico de SDR através do TME realizado no aspirado gástrico. A aplicabilidade clínica do TME neste tipo de fluido orgânico está bem estabelecida.

Chida et al³⁸ verificaram, prospectivamente, que o TME realizado em aspirado gástrico e em líquido amniótico poderiam ser equivalentes. O aspirado gástrico foi obtido dentro de 30 minutos após o nascimento. O ponto de corte para definir imaturidade pulmonar para o líquido amniótico foi menor que 5 microbolhas estáveis/mm² e menor que 10 microbolhas estáveis/mm² em AG. Utilizando estes critérios estes autores obtiveram um valor preditivo positivo de 100% e 96%, e valor preditivo negativo de 91% e 84%, respectivamente, e sugeriram que o aspirado gástrico poderia ser utilizado como alternativa ao líquido amniótico para realizar o TME, na predição de deficiência de surfactante.

Wu et al³⁹ avaliaram 59 prematuros com menos de 37 semanas de idade gestacional, demonstrando um valor preditivo positivo de 76% e negativo de 97,1%, enquanto a sensibilidade e a especificidade foram de 95 % e 84,6%, respectivamente, para diagnosticar SDR. Estes autores sugerem que o ph do aspirado gástrico não afeta a formação de bolhas se a amostra é obtida logo após o parto, pois, nessa situação, o ph ainda é neutro, semelhante ao do líquido amniótico.^{38,40}

Chida et al⁴¹ avaliaram a utilidade clínica do TME para prever o desenvolvimento da SDR, comparando-o a outros testes em amostras de líquido amniótico obtidos dentro de 12 horas antes do parto de 40 gestantes entre 23 e 35 semanas de gestação. Esses testes incluíram: relação lecitina/esfingomielina, relação fosfatidilcolina dessaturada/esfingomielina, concentração de lecitina, fosfatidilcolina não saturada, e proteínas A, B e C associadas ao surfactante. A precisão diagnóstica do TME foi semelhante à dos outros testes. O TME e a concentração de SP-B e SP-C tiveram, ambos, um valor preditivo positivo de 100%. Os autores concluíram que o TME poderia ser utilizado para prever a deficiência de surfactante.

Teerataculpisarn et al⁴² analisaram a utilidade e a precisão do TME no aspirado gástrico de neonatos para prever a SDR e compararam os resultados com os do shake test, usando as características clínicas da SDR como padrão ouro para o diagnóstico da mesma. Foram avaliados 140 pares de amostras de aspirado gástrico, obtidas dentro de uma hora após o parto, de

neonatos com idade gestacional entre 27 e 42 semanas e com peso entre 800 e 4090 gramas. A sensibilidade e a especificidade do TME com menos de 20 microbolhas estáveis/mm² foram de 94,7% e 95% respectivamente, com um valor preditivo positivo de 75% e um valor preditivo negativo de 99,1%. O valor preditivo e a especificidade aumentavam para 100% nos prematuros. Esses valores, especialmente o valor preditivo positivo e a especificidade foram muito mais altos que aqueles obtidos com o shake test. Concluíram, os autores, que o TME no aspirado gástrico obtido dentro de uma hora após o parto é um procedimento rápido e simples para identificar os neonatos que desenvolverão SDR e que podem ser beneficiados com o tratamento precoce com o surfactante exógeno.

Fiori et al²⁷ determinaram a utilidade do TME e do click test no suco gástrico obtido logo após o nascimento para prever SDR em recém-nascidos com menos de 35 semanas de idade gestacional. Nesse estudo, foram incluídos 110 recém-nascidos. O melhor ponto de corte foi 15 microbolhas estáveis/mm². A sensibilidade e a especificidade foram, respectivamente, 83% e 85%, demonstrando uma boa acurácia do TME para determinar a maturidade pulmonar e a consecutiva utilização de surfactante exógeno nos recém-nascidos que apresentam deficiência de surfactante.

Pereira³⁰ estudaram o efeito do congelamento do fluido gástrico para o teste e a concordância inter e intra - observador no TME. Concluíram, tanto pela análise quantitativa quanto pela análise qualitativa, sugere que o

congelamento das amostras não altera substancialmente as contagens de microbolhas no TME.

A secreção obtida através do aspirado traqueal passou a ter interesse pelos pesquisadores na década de 90. Friedrich et al⁴³ relataram uma baixa sensibilidade do TME em aspirado traqueal (52%) e especificidade de 90% com um ponto de corte de 10 bem/mm² para predição de SDR. As amostras foram coletadas durante as primeiras quatro semanas de vida do paciente, acrescidas de SF a 0,9% após aspiração, centrifugadas a 200 X g por 10 minutos e congeladas a - 20°C durante 48 horas até serem processadas. Vinte e nove pacientes fizeram parte do grupo controle e tiveram mediana de 307 bem/mm² (variando de 0 a 1770 bem/mm²) e 21 pacientes do grupo com SDR apresentaram mediana de 7 bem/mm² (variando de 0 a 2145 bem/mm²).

Eckert Seitz et al⁴⁴ realizaram o TME em aspirado traqueal de 74 de recém-nascidos que necessitaram de VM. Os valores do testes foram significativamente baixos nos grupos de SDR e Síndrome de Aspiração de Mecônio comparado com os outros grupos (com pneumonia, outras doenças cardíacas/pulmonares e sem doenças cardíacas/pulmonares) O teste mostrou-se altamente acurado para o diagnóstico de SDR. Com um ponto de corte de <120microbolhas/mm² a sensibilidade de 96,3% e especificidade de 97,6%.

Boo et al⁴⁵ realizaram a coleta de aspirado traqueal instilando, por três vezes, 0,5 ml de soro fisiológico (SF) a 0,9% em traquéia do recém-nascido e aspirado em seguida. A quantidade de 0,1 ml do aspirado traqueal foi enviada

para cultura, 0,1 ml para TME e o restante encaminhado ao laboratório. A amostra foi acrescida de 0,3 ml de SF a 0,9% e centrifugada a 300 X g durante 10 minutos para remoção de partículas. O restante foi congelado a -20°C até análise de SP-A. Ao todo foram utilizadas 104 amostras para este trabalho; 43 com SDR (4 bebês com IG igual ou maior a 37 semanas), 15 com Síndrome de Aspiração de Mecônio (todos a termo), 15 com broncopneumonia (BPN) e 31 sem alteração pulmonar (24 tiveram apnéia decorrente de asfixia, 4 com apnéia da prematuridade, 1 com distensão abdominal e 02 com pneumotórax). Quanto aos valores de TME, verificou-se diferença significativa entre o grupo de SDR (mediana de 96bem/mm²; variando de 3 a 707 bem/mm²) e sem doença pulmonar (mediana de 288 bem/mm²; variando de 13 a 613 bem/mm²). O TME igual ou menor a 70 bem/mm² teve a maior acurácia para o diagnóstico de SDR, com uma sensibilidade de 97,7% e especificidade de 90,3%. A especificidade máxima encontrada foi com TME menor ou igual a 10 bem/mm² e sensibilidade máxima com TME menor ou igual a 90 bem/mm².

Algumas vezes, seja por intubação após o período neonatal imediato (como no caso de transferência de bebê de outro hospital) ou pelo estômago estar vazio quando a sonda é colocada, não se tem acesso ao conteúdo gástrico imediatamente após o nascimento. Nestes casos, quando o paciente estiver entubado, o aspirado traqueal passa a ser uma alternativa útil.

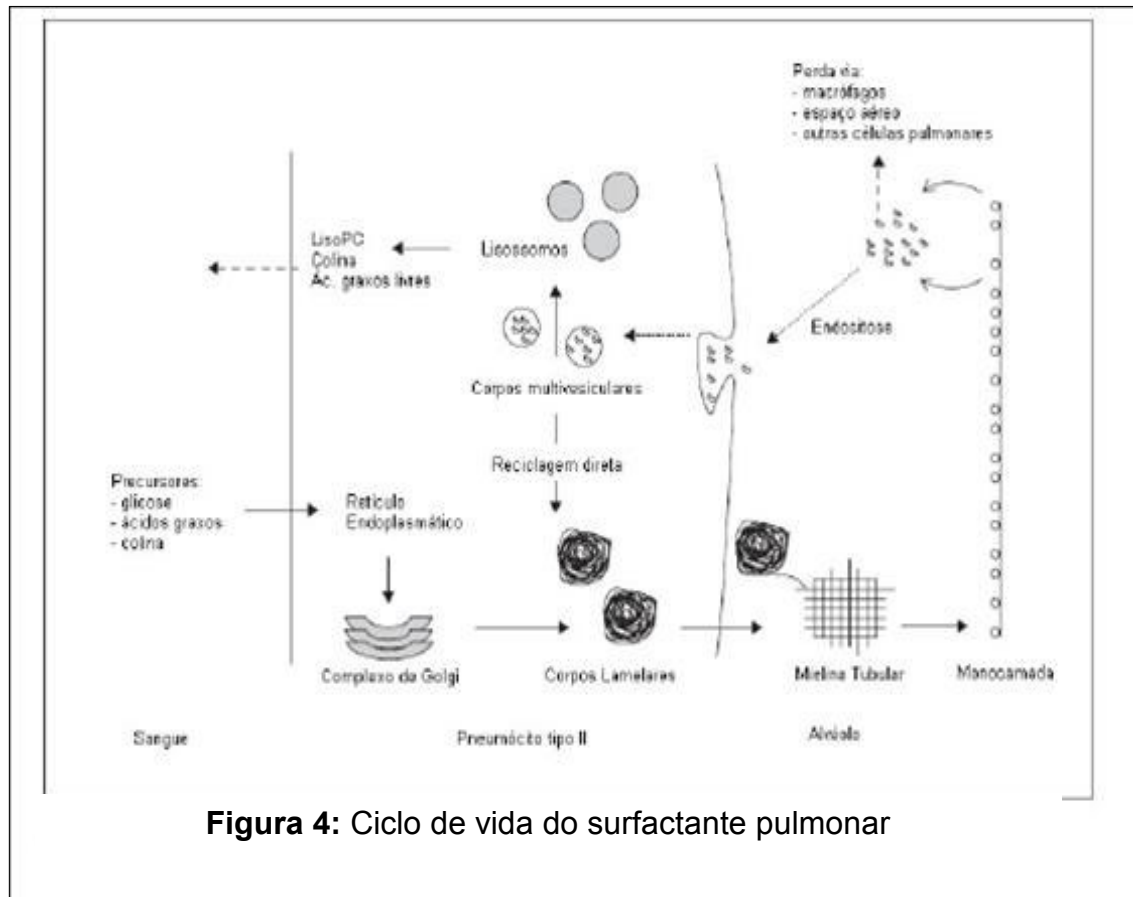
Fiori et al,⁴⁶ em 2004 avaliaram a função surfactante em recém-nascidos a termo (RNT) ou próximos ao termo com diagnóstico clínico de TTRN, usando

o TME no AG. Em todos os bebês (30 com desconforto e 32 controles) os aspirados gástricos foram coletados nos primeiros 30 minutos de vida. Observaram que a maioria destes RNT ou próximos ao termo com desconforto respiratório apresentaram uma baixa contagem de microbolhas e que a maioria sem desconforto respiratório teve uma contagem alta. Quando se usou o melhor ponto de corte, que foi de 35 bem/mm², a sensibilidade foi de 75% e a especificidade foi de 94%. Dos pacientes com diagnóstico de TTRN, o grupo ficou mais tempo em oxigênio e necessitou uma FIO₂ mais alta foi o que tinha uma contagem mais baixa de microbolhas.

1.1.6 Contagem de Corpos Lamelares

O surfatante é sintetizado, a partir dos seus percussores,¹ no retículo endoplasmático,² transportado pelo aparelho de Golgi.³ até os corpos lamelares,⁴ onde é armazenado. Os corpos lamelares são secretados para a camada líquida que reveste os alvéolos, onde se transformam em mielina tubular⁵. A mielina tubular libera a dipalmitoil-fosfatidilcolina e proteínas hidrofóbicas para a formação da monocamada na interface ar-líquido.⁶ O surfatante é reutilizado pelos pneumócitos tipo II através da captação dos pequenos agregados celulares.⁷ Essas vesículas de surfatante são

transformadas, pelo endossoma,⁸ em corpos multivesiculares.⁹ Esses agregados de fosfolipídio são armazenados nos corpos lamelares.⁴ Uma pequena fração do surfatante é fagocitada pelos macrófagos alveolares.¹⁰



Os Corpos Lamelares contêm uma proporção significativa de fosfatidilglicerol.⁴⁷ São ricos em proteína surfatante B e proteína surfatante C. Parece que essas proteínas são secretadas junto com o fosfolipídio.⁴⁸ Acredita-se que a proteína surfatante A recém sintetizada seja secretada independentemente dos corpos lamelares.^{49,31} Os corpos lamelares são também deficientes em proteína surfatante D, sendo que esta proteína deve ser secretada independentemente dos lipídeos.⁴⁹

Existem vias sinalizadoras intracelulares nos pneumócitos tipo II que levam a secreção do surfatante.⁴⁷ Um componente chave para a sinalização envolve a elevação do cálcio citoplasmático, o que tem sido demonstrado em resposta ao estiramento da célula, sugerindo que a insuflação do alvéolo pode ser um estímulo fisiológico relevante para a secreção de surfatante.⁴⁷ Dois fatores fisiológicos estimulam a secreção do surfatante in vivo: a ventilação, que estimula a secreção em adultos e recém-nascidos, e o trabalho de parto, que estimula a secreção em recém-nascidos.⁴⁹ Há relatos de que as prostaglandinas e prostaciclina estimulam a secreção de surfatante nos pneumócitos.⁴⁹

A composição aproximada dos fosfolípidos dos CL humanos é a seguinte: fosfatidilcolina 71%, fosfatidilglicerol 10%, fosfatidilinositol e fosfatidilserina 6%, fosfatidiletanolamina 8%, esfingomiéline 2% e outros 3%. O surfatante humano tem pouco mais de fosfatidilcolina, fosfatidilglicerol e esfingomiéline (73%, 12% e 4%) e pouco menos fosfatidiletanolamina(3%).⁴⁸

Os corpos lamelares são pacotes de fosfolípido dispostos em camadas concêntricas que representam a forma de armazenamento do surfatante e que podem ser contados no canal de plaquetas da maioria dos contadores eletrônicos de células. Os Corpos Lamelares tem um diâmetro de 1-5µm, semelhante ao das plaquetas, esta similaridade permite o uso do contador de células hematológico automatizado para quantificar o número de corpos lamelares.

A relação entre Corpos Lamelares no líquido amniótico e maturidade pulmonar é referida desde 1966.^{50,51} A contagem é tão eficaz quanto a tradicional análise da relação lecitina/esfingomielina na avaliação da maturidade pulmonar fetal.^{33,52} Trabalhos subseqüentes confirmaram estes achados. A CCL passou a ser considerada mais vantajosa que a relação lecitina/esfingomielina na avaliação da maturidade pulmonar fetal por ser mais rápido e mais objetivo, exigindo menos trabalho, podendo ser realizado com equipamento disponível na maioria dos hospitais, com sensibilidade em torno de 100% e especificidade em torno de 80%.^{53,54,55,56}

A contaminação com sangue lisado tem mostrado um efeito significativo na CCL.⁶³ Outro estudo mostrou que a contaminação com sangue altera a maioria dos testes de maturidade pulmonar fetal porque o plasma contém altas concentrações de fosfolipídios. Além do sangue, amostras contendo muco ou mecônio poderiam também alterar a CCL.¹

Metanálise com seis estudos comparando o desempenho da relação lecitina/esfingomielina com CCL no líquido amniótico confirma que a CCL deve ser a primeira escolha para avaliação da maturidade pulmonar fetal.¹⁹ Outras publicações recentes também confirmam esta conclusão.^{57,58,59}

A utilização da CCL no aspirado gástrico (AG) para diagnóstico da SDR ainda é relativamente pouco estudada, porém com resultados promissores.^{60,61,62}

Outra vantagem da utilização da CCL em relação à relação L/E foi demonstrada por De Roche. Esse autor utilizou a CCL em pacientes com gestação complicada por diabetes mellitus e encontrou números de CL similares aos encontrados em gestações sem diabetes. Esses resultados sugerem que a CCL possa não ser falsamente elevada naquelas gestações complicadas por diabetes, como acontece com a relação L/E.⁶³

Aswhood et al³³ coletaram líquido amniótico e acompanharam 247 recém-nascidos com IG entre 26 e 41 semanas. Destes, 28 desenvolveram SDR e tinha CCL no LA menor ou igual a 55.000 corpos lamelares/ul. Cinquenta e nove por cento dos casos sem SDR revelaram contagem maior que este valor. Com o ponto de corte para a CCL maior ou igual a 50.000 corpos lamelares/ul, a sensibilidade foi de 96% e a especificidade foi de 65%. Os autores destacaram que as amostras foram centrifugadas a 400X g durante 2 minutos e que isto poderia diminuir em 8% a contagem.

Guidini et al⁶⁴ coletaram 102 amostras de LA, que foram processadas a fresco, agitadas por 2 minutos e todas as contagens foram realizadas em duplicatas. Dezesete pacientes desenvolveram SDR (16,7%), sendo que 11 tinham IG inferior a 35 semanas, três entre 35 e 37 semanas e três com IG igual ou superior a 37 semanas. Foi verificada significativa correlação entre IG e CCL, bem como entre baixa contagem e o diagnóstico de SDR. Considerando uma CCL maior que 37.000 corpos lamelares/ul como limiar para maturidade pulmonar fetal obtiveram uma sensibilidade de 95% e valor preditivo negativo

de 98%.

Neerhof et al⁶⁹ em seu estudo afirma que corpos lamelares têm sido usados por mais de uma década, sendo um teste seguro para avaliação da maturidade pulmonar. Considera um ponto de corte de 50.000/microl seguro para avaliação da maturidade fetal e sugere que uma contagem abaixo de 15.000/microl esta relacionada à imaturidade pulmonar.

1.2 JUSTIFICATIVA

A TTRN é uma disfunção respiratória freqüente em recém-nascidos a termo e próximos do termo e têm sido atribuídas a um retardo na absorção do líquido pulmonar após o nascimento, não estando claro ainda o papel da deficiência e/ou da disfunção do sistema surfatante na sua patogenia. Quadros respiratórios mais intensos e prolongados, intermediários entre a clássica TTRN e a clássica DMH, classificados por uns como TTRN mais grave e por outros como DMH mais leve podem estar associados a alterações maiores do sistema surfactante pulmonar. Sabemos que o TME no LA, aspirado traqueal e AG é um bom método para discriminar a função surfatante e a CCL no LA é um bom método para avaliar a produção surfatante em recém-nascidos pré-termo com DMH.

Existe uma necessidade de se estabelecer novos métodos de avaliação de maturidade pulmonar de recém-nascidos, que sejam confiáveis, rápidos de baixo custo, a fim de identificar logo após o nascimento, recém-nascidos que se beneficiariam com a administração de surfatante.

Outro fato presente é o grande número de cesáreas eletivas ocorrendo em grandes hospitais, ocasionando um grande número de recém-nascidos a termo com TTRN, necessitando de cuidado intensivo neonatal.

Diversos métodos já foram descritos para a avaliação da maturidade pulmonar, o aspirado gástrico por conter líquido amniótico deglutido pelo recém-nascido, pode ser analisado quanto à quantidade de corpos lamelares, estimando-se assim a quantidade de surfatante produzida pelos pulmões dos recém-nascidos.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo Geral

Determinar a função e produção surfatante através do TME e da CCL no aspirado gástrico em recém-nascidos a termo com taquipnéia transitória.

1.3.2 Objetivos Específicos

*Comparar os resultados do TME e da CCL em recém-nascidos ≥ 37 semanas de idade gestacional com suspeita clínica de TTRN com os de um grupo de recém-nascidos sem DR.

*Calcular a sensibilidade e a especificidade do TME e da CCL para discriminar recém-nascidos com TTRN.

*Avaliar uma possível relação entre os resultados do TME e da CCL com a gravidade do quadro respiratório.

1.4 REFERÊNCIAS

1. Whitsett JA, Pryhuber GS, Rice WR, Warner BB, Wert SE. Acute Respiratory Disorders. In: Avery GB, Fletcher MA, MacDonald MG. Neonatology Pathophysiology and Management of the Newborn 4th ed. Philadelphia, JB. Lippincott Company. 1994;432-6.
 2. Rubaltelli FF, Dani C, Reali MF, Bertini G, Wiechmann L, Tangucci M, Spagnolo A. Acute neonatal respiratory distress in Italy: a one-year prospective study. *Acta Paediatr.* 1998;87:1261-8.
 3. Wesenberg RL, Graven SN, McCabe EB. Radiological findings in wetlung disease. *Radiology.* 1971;98:69-74.
 4. Malan AF. Diagnosis of the respiratory distress syndrome in newborn infants. *S Afr Med J.* 1966; 28:468-9.
 5. Swischuk LE. Transient respiratory distress of the newborn (TRDN). A temporary disturbance of a normal phenomenon. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med.* 1970;108:557-63.
-

6. Kottler RE, Malan AF, Heese H. Respiratory distress syndrome in the newborn. *S Afr H Radiol.* 1964;2:36-8.
 7. Demissie K, Marcella SW, Breckenredge MB, Rhoads GG. Maternal Asthma and transient tachypnea of the newborn. *Pediatrics.* 1998;102:4-90.
 8. Singhi SC, Chookang E. Maternal fluid overload during labour; transpericardial hyponatraemia and risk of transient neonatal tachypnoea in term infants. *Arch Dis Child.* 1984;59:1155-8.
 9. Rubaltelli FF, Bonafe L. The incidence of acute neonatal respiratory in Padovan: epidemiological survey. *Acta Paediatr.* 1996;85:1236-40.
 10. Rubaltelli FF, Bonafe L, Tangucci M, Spagnolo A, Dani C. Epidemiology of neonatal acute respiratory disorders. A multicenter study on incidence and fatality rates of neonatal acute respiratory disorders according to gestational age, maternal age, pregnancy complications and type of delivery. *Biol Neonate* 1998;74:7-15.
 11. Brow MJ, Olver RE, Ramsden CA, Strang LB, Walters DV. Effects of adrenaline and of spontaneous labour on the fetal lamb. *J physiol* 1983;344:137-52.
 12. Morrison JJ, Rennie JM, Milton PJ. Neonatal respiratory morbidity and mode of delivery at term: influence of timing of elective cesarean section.
-

Br J Obstet Gynaecol. 1995;102:101-6.

13. Dani C, Reali MF, Bertini G, Wiechmann L, Spagnolo A, Tangucci M, Rubaltelli FF. Risk factors for the development of respiratory distress syndrome and transient tachypnoea in newborn infants. *Eur Respir J.* 1990;14:155-9.
 14. Walters DV, Olver RE. The role of catecholamines in lung liquid absorption at birth. *Pediatric Res.* 1978;12:239-42.
 15. Faxelius G, Hagnevik K, Lagercrantz H, Lundell B, Irestedt L. catecholamine surge and lung function after delivery. *Arch Dis Child.* 1983;58:262-6.
 16. Greenough A, Lagercrantz H. Catecholamine abnormalities in transient tachypnoea of the premature newborn. *J Perinat Med.* 1992;20:223-6.
 17. Brice JEH, Walker CHM. Changing pattern of respiratory distress in newborn. *The Lancet.* 1977;8:752-4.
 18. Howatt WF, Avery ME, Humphreys PW, Normand ICS, Reid L, Strang LB. Factors affecting pulmonary surface properties in the fetal lamb. *Clin Sci.* 1965;29:239-48.
 19. Bourbon JR, Francoual J, Magny JF, Lindenbaum A, Lelue R, Dehan M. Changes in phospholipid composition of tracheal aspirate from newborns with hyaline membrane disease or transient tachypnoea. *Clin Chim Acta.*
-

1990;189:87-94.

20. James DK, Chiswick ML, Harces A, Williams M, Hallworth J. Nonspecificity of surfactant deficiency in neonatal respiratory disorders. *Br Med J.* 1984;288:1635-8.

21. Gross TL, Sokol RJ, Kwong MS, Wilson M, Kuhnert PM. Transient tachypnea of the newborn: the relationship to preterm delivery and significant neonatal morbidity. *Am J Obstet Gynecol.* 1983;146:236-41.

22. Penn D, Sommerfeld ES, Heinz L. Postnatal respiratory difficulties associated with "incomplete" surfactant. *Am J Obstet Gynecol.* 1982;15:981-2.

23. James DK, Eddowes H, Rodgers A, Harces A, Williams M. Surfactant maturation and preterm premature membrane rupture: a case study. *Fetal Diagn Ther.* 1990;5:205-10.

24. James DK, Chiswick ML, Harces A, Williams M, Tindall VR. Maternal diabetes and neonatal respiratory distress. II. Prediction of fetal lung maturity. *Br J Obstet Gynaec.* 1984;91:325-9.

25. Staub NC. Effects of alveolar surface tension on the pulmonary vascular bed. *Jpn Heart J.* 1966;7:386-99.

26. Bhuta T, Kent-Biggs J, Jeffery HE. Prediction of surfactant dysfunction in term infants by the click test. *Pediatr Pulmonol.* 1997;23:287-91.

-
27. Fiori HH, Varela I, Justo AL, Fiori RM. Stable microbubble test and click test to predict respiratory distress syndrome in preterm infants not requiring ventilation at birth. *J Perinat Med.* 2003;31:509-14.
 28. Sundell H, Garrott J, Blankenship WJ, Shepard FM, Shahlman MT. Studies on infants with type II respiratory distress syndrome. *J Pediatr.* 1971;78:754-64.
 29. Luz JH. Teste das Microbolhas estáveis na avaliação da função surfatante in vitro. Porto Alegre (RS): Pontifica Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2001.
 30. Pereira MAR, Fiori HH, Luz JH, Fiori RM. Inter e Intravariabilidade e o Efeito do Congelamento no Teste das Microbolhas Estáveis Realizada na Secreção Gástrica de Recém-Nascidos (dissertação). Porto Alegre (RS): PUCRS; 2002.
 31. Possmayer F. Physicochemical Aspects of pulmonary Surfactant. In: Polin RA, Fox WW (Ed). *Fetal and Neonatal Physiology.* 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company. 1998;4:1259-75.
 32. Neerhof MG, Haney EI, Silver RK, et al. Lamellar Body Counts Compared With Traditional Phospholipid Analysis As An Assay For Evaluating Fetal Lung Maturity. *Obstet Gynecol.*, 2001;97:305-9.
-

-
33. Ashwood ER, Palmer SE, Taylor JS, et al. Lamellar Body Counts for Rapid Fetal Lung Maturity Testing. *Obstet Gynecol*, 1993;81:619-24.
34. Smith CA, Nelson NM. *The physiology of the newborn infant*, 4th edn. Charles C Thomas Publisher, Springfield. 1976,469-75.
35. Fiori HH, Carlos C. Fritscher, Fiori. RM, Selective surfactant prophylaxis in preterm infants Born at =weeks' gestation using the stable microbubble test in gastric aspirates. *J Perinat Med*.2006;34:66-70.
36. Whitsett JA, Pryhuber GS, rice WR, Warner BB, WertSE. Acute respiratory disorders. In: Avery GB, Fletcher MA, MacDonald MG. *Neonatology- Pathophysiology and Management of the Newborn*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 1999;5:485-508.
37. Pattle RE, Kratzing CC, Parkinson CE, Graves L, et al. Maturity of fetal lungs tested by production of stable microbubbles in amniotic fluid. *Br J of Obstet and Gynaecol*. 1979;86:615-22.
38. Chida S, Fujiwara T, Konishi M, Takahashi H, Sasaki M. Stable microbubble test for predicting the risk of respiratory distress syndrome. II. Prospective evaluation of the test on amniotic fluid and gastric aspirate. *Eur J Pediatr*. 1993;5:152-6.
39. Wu TJ, Teng RJ, Yau KL. Stable microbubble test for predict the occurrence of respiratory distress syndrome. *Chung Hua Min Kuo Hsiao*
-

- Erh Co I Hsueeh Hui Tsa Chih. 1995;36:101-3
40. Smith CA, Nelson NM. The physiology of the newborn infant, 4th edn. Charles C Thomas Publisher, Springfield. 1976;469-78.
41. Chida S, Fujiwara T. Stable microbubble test for predicting the risk of respiratory distress syndrome. I. Comparisons with other predictors of fetal lung maturity in amniotic fluid. *Eur J Pediatr.* 1993;4:152-6.
42. Teeratakulpisarn J, Taksaphan S, Pengsaa K, et al. Prediction of Idiopathic Respiratory Distress Syndrome by the Stable Microbubble Test on Gastric Aspirate. *Pediatric Pulmonology.* 1998;25:383-9.
43. Friedrich W, Haufe M, Schmalisch G, Wauer RR. The stable microbubble test in tracheal aspirate samples from newborn babies for diagnosis of surfactant deficiency and/or surfactant malfunction. *Biol Neonate.* 1998;73:10-8.
44. Eckert Seitz E, Fiori HH, Luz JH, Fiori RM. Stable microbubble test on tracheal aspirate for the diagnosis of respiratory distress syndrome. *Biol Neonate.* 2005;87:140-4.
45. Boo NY, Cheong KB, Cheon SK, Lye MS, Zulfiqar MA. Usefulness of stable microbubble test of tracheal aspirate for the diagnosis of neonatal respiratory distress syndrome. *J Paediatr Child Health.* 1997;33:329-34.
46. Fiori HH, Henn R, Baldisserotto M, Bica IG, Fiori RM. Evaluation of
-

surfactant function at the birth determined by the stable microbubble test in term and near term infants with respiratory distress. *Eur J Pediatr.* 2004;163:443-8.

47. Weaver TE, Na CL, Stahlman M. Biogenesis of lamellar bodies, lysosome-related organelles involved in storage and secretion of pulmonary surfactant. *Semin Cell Dev Biol.* 2002;13:263-70.

48. Whitsett JA. Composition of pulmonary surfactant lipids and proteins. In: Polin RA, Fox WW (Ed). *Fetal and neonatal physiology.* 2 nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company. 1998;2:1251-9.

49. Rooney SA. Regulation of surfactant secretion. *Comp Biochem Physiol A Mol Inegr Physiol* 2001;129:233-43.

50. Herbert WN, Johnston JM, MacDonald PC, Jimenez JM. Fetal lung maturation: human amniotic fluid phosphatidate phosphohydrolase activity trough normal gestation and its relation to the lecitin/sphingomyelin ratio. *Am J Obstet Gynecol.* 1978;132:373-9.

51. Duck-Chong CG, Henderson-Smart DJ, Gupta JM, Hensley WJ. Measurement of "lamellar body phospholipid" in amniotic fluid as a method for assessing fetal lung maturity. 1981;27:1851-5.

52. Dalence CR, Bowie LJ, Dohnal JC, et al. Amniotic Fluid Lamellar Body Count: A Rapid and Reliable Fetal Lung Maturity Test. *Obstet Gynecol*

- 1995; 86: 235-9.
53. Lee IS, Cho YK, Kim A, Mim WK, Kim KS, Mok JE. Lamellar body count in amniotic fluid as a rapid screening test for fetal lung maturity. *J Perinatol.* 1996;16:176-80.
54. Beinlich A, Fischass C, Kaufmann M, Schlosser R, Dericks-Tan JS. Lamellar body counts in amniotic fluid for prediction of fetal lung maturity. *Arch Gynecol Obstet.* 1999;262:173-80.
55. Piazze JJ, Anceschi MM, Maranghi I, Porpera MG, Cosmi EV. The biophysical/biochemical test. A new marker of fetal lung maturity in borderline cases. *J Reprod Med.* 1999;44:611-5.
56. Neerhof MG, Dohnal JC, Ashwood ER, et al. Lamellar Body Counts: A Consensus on Protocol. *Obstet Gynecol.* 2001;97:318-20.
57. Abd El Aal DE, Elbhirshy AA, Atwa S, El-Kabsh MY. Lamellar body counts as a predictor of neonatal lung maturity in high-risk pregnancies. *Int J Gynecol Obstet,* 2005;89:19-25.
58. Khazardoost S, Yahyazadeh H, Borna S, Sohrabvand F, Yahyazadeh N, Amini E. Amniotic fluid lamellar body count and its sensitivity and specificity in evaluating of fetal lung maturity. *J Obstet Gynecol.* 2005;25:257-9.
59. Hunter LA, McKenna DS, Baptista MA. Comparison of lamellar body
-

counts using light microscopy with standard coulter counter techniques to assess fetal lung maturity. *Gynecol Obstet Invest.* 2006; 61:29-33.

60. Verder H, Staun-Olsen P, Brandt J, Qin GR, Ebbesen F, Robertson B. Prediction of Respiratory Distress Syndrome by Lamellar Body Counts on Gastric Aspirates in Newborns Less than 32 Week's Gestation. *Biol Neonate* 2003;84:32-41. Abstract Proc. 18th Int. Workshop on Surfactant Replacement. Prague, 2003.

61. Verder H, Ebbesen F, Grytter C, Björklund L, Bohlin K. Lamellar body counts on gastric aspirates at birth predicts respiratory distress syndrome. 20th International Workshop on Surfactant Replacement [Poster Abstracts]. 2005; June 2nd – 5nd, Belfast, Northern Ireland.

62. Colvero AP, Fiori HH, Luz JH, Colvero MO, Santos EF, Munhoz TP, Fiori RM. Contagem dos Corpos Lamelares no Aspirado; Gástrico de Recém-Nascidos a Termo e Pré-Termo. *Pediatric Research.* 2004;55:515^A.

63. De Roche ME, Ingardia CJ, Guerette PJ, Wu AH, La Sala CA, Mandavilli SR. The use of lamellar body counts to predict fetal lung maturity in pregnancies complicated by diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187:908-12.

64. Guidini A, Poggi SH, Spong CY, Goodwin KM, Vink J, Pezzullo JC. Role of lamellar body count for the prediction of neonatal respiratory distress syndrome in non-diabetic pregnant women. *Arch Gynecol Obstet.*

2005;271:325-8.

65. Von Neergaard K. Neue Auffassungen über einen Grundbegriff der Atemmechanik. Die retraktionskraft der lunge, abhängig von der Oberflächenspannung in the alveolen. Z. Gesamt Exp Med. 1929;66:373-94.

66. Hallman M, Haataga R, Marttila R. Surfactant proteins and genetic predisposition to respiratory distress syndrome. Semin Perinatol. 2002;26:450-60.

67. Lacaze- Masmonteil T. Exogenous surfactant therapy: newer developments. Semin Neonatol. 2003.; 8:433-40.

68. Haagsman H. Oxidative damage of the pulmonary surfactant System. Semin Neonatol. 1998;3:2007-17.

69. Neerhoff MG, Dohnal JC, Ashwood ER, Lee IS, Anceschi MM. Lamellar body counts: a consensus on protocol. Obstet Gynecol. 2001;97:318-20.

CAPÍTULO II

2 METODOLOGIA

2.1 Delineamento do Estudo

Trata-se de um estudo de caso-controle prospectivo no período de agosto de 2007 a setembro de 2008, em recém-nascidos com desconforto respiratório logo após o nascimento e que necessitavam de suplementação de oxigênio por 06 horas. Eram crianças nascidas no Hospital Moinhos de Vento (Porto Alegre, RS), com idade gestacional maior ou igual a 37 semanas.

Os pacientes foram seguidos pela autora deste estudo e por neonatologistas do serviço. Aqueles com dificuldade respiratória recebiam oxigênio suplementar para manter uma saturação entre 90-95%. Todos os casos estudados estavam com o diagnóstico inicial, antes do raio-x, de TTRN, SDR ou DRMD, feito pelos neonatologistas. O primeiro estudo radiológico foi interpretado separadamente por 2 (dois) radiologistas com experiência em radiologia neonatal, sem o conhecimento do quadro clínico do paciente.

Para cada paciente com desconforto respiratório selecionou-se um outro, com a mesma idade gestacional, sem dificuldade respiratória, como controle. Os dados referentes aos pacientes com DR foram coletados pela autora.

O TME foi realizado pela autora no Hospital Moinhos de Vento e por 02 neonatologistas de modo cego do Hospital São Lucas da Puc-RS.

2.2 População e Amostra

A população estudada inclui 21 (vinte e um) recém-nascidos com idade gestacional ≥ 37 semanas com DR logo após o nascimento, com suspeita clínica de TTRN, admitidos na UTI Neonatal do Hospital São Lucas da PUCRS e na UTI Neonatal do Hospital Moinhos de Vento. Como controles, 21 (vinte e um) recém-nascidos da mesma idade gestacional sem DR.

2.2.1 Critérios de Inclusão

Foram incluídos no estudo recém-nascido com disfunção respiratória logo após o nascimento, com suspeita clínica de TTRN, e que necessitaram de suplementação de oxigênio por mais de 6 horas para manter saturação transcutânea de O₂ entre 90-95%.

O grupo controle foi constituído de recém-nascidos a termo normais, sem DR.

2.2.2 Critérios de Exclusão

Foi planejada a exclusão de recém-nascidos com qualquer outro diagnóstico específico que não TTRN ou SDR ou Doença respiratória mal-definida (DRMD).

Especificamente, foi prevista no projeto a não inclusão de pacientes com:

- Hipoplasia pulmonar, hérnia diafragmática congênita, pneumotórax.
 - Cardiopatias congênitas.
-

- Bolsa rota > 18 horas.
- Corioamnionite, febre materna.
- Asfixia grave – Apgar no 5º minuto < 6.
- Malformações congênitas significativas.
- LA meconial.
- AG hemorrágico cuja amostra tenha um hematócrito maior que 1%.

O primeiro estudo radiológico de tórax, realizado nas primeiras horas de vida, foi avaliado, independentemente, por 2 (dois) radiologistas com experiência em radiologia neonatal, sem conhecimento dos dados clínicos dos pacientes.

De acordo com sua interpretação, o RX dos pacientes com DR foram classificados como: TTRN, DMH, Outro Diagnóstico Específico, RX mal-definido e RX normal.

Pacientes com outro diagnóstico específicos foram excluídos posteriormente da análise.

2.2.3 Critérios para Diagnóstico de Taquipnéia Transitória do Recém-nascido (Grupo 1).

- Clínicos: taquipnéia – frequência respiratória (FR) > 60/minuto, com necessidade de oxigênio por, no mínimo 6 horas, nas primeiras 24 horas de vida para manter saturação transcutânea de oxigênio entre 90-95%.
- Radiológicos: presença de estrias partindo do hilo pulmonar, hiperinsuflação pulmonar e presença de líquido intercissural no espaço pleural.

2.2.4 Critérios para Diagnóstico de Síndrome do Desconforto Respiratório do Recém-nascido (Grupo 2).

- Clínicos: desconforto respiratório observado nas primeiras horas de vida, com progressão da necessidade de oxigênio para manter a saturação transcutânea entre 90-95%.
- Radiológicos: presença de infiltrado retículo-granular difuso, broncograma aéreo e hipoexpansão pulmonar.

2.2.5 Critérios para Diagnóstico de Desconforto Respiratório Mal Definido do Recém-nascido (Grupo 3).

- Radiológicos: foram incluídos neste grupo os recém-nascidos cujo primeiro estudo radiológico, realizado nas primeiras horas, fosse definido como inconclusivo ou quando houvesse discordância entre os radiologistas quanto ao diagnóstico de TTRN ou SDR.

2.2.6 Critérios para Inclusão no Grupo Controle (Grupo 4).

Para cada RN com DR incluído no estudo foi selecionado um controle a termo de mesmo sexo e mesma via de nascimento (cesariana eletiva), sem DR. Estes pacientes não foram submetidos à RX de tórax.

Foram coletados dados do prontuário, tais como idade gestacional pela DUM, idade gestacional pediátrica pelo método de New Ballard³⁵ ou ecografia obstétrica precoce com menos de 20 semanas, sexo do RN, tipo de parto, tempo de bolsa rota (em horas), uso de corticóide materno pré-natal antes do parto, peso de nascimento, evolução clínica. Em todos os bebês foi coletado aspirado gástrico nos primeiros 30 minutos de vida para realização do TME e da CCL.

2.2.7 Variáveis Principais:

- TME;
- CCL.

2.2.7.1 Variáveis de Caracterização da Amostra

- Idade Gestacional (IG);
- Peso;
- Adequação entre peso/idade gestacional;
- Sexo;
- Escore de Apgar;
- Via de nascimento;
- Patologias maternas;
- Corticóide Antenatal.

2.2.7.2 Variáveis de Desfecho:

- Presença de critérios diagnósticos para DMH, TTRN ou DRMD.
-

Grupo controle com a mesma idade gestacional, sexo e sem DR;

- Tempo total de necessidade de oxigênio maior 40%;
- FiO₂ máxima utilizada (por período maior que uma hora não considerando aumentos transitórios de O₂.)
- Necessidade de CPAP/ Ventilação Mecânica;
- Uso de surfatante.

2.2.7.3 Operacionalização das Variáveis:

- TME no AG: foi registrado o número de microbolhas estáveis em cada amostra de aspirado gástrico. Foram considerados microbolhas estáveis aquelas menores de 15 µm presentes após 4 minutos, contadas em microscópio com aumento de 100 vezes;
 - CCL no AG: número de corpos lamelares em cada amostra do aspirado gástrico, definido como o número de plaquetas lido pelo contador eletrônico de células Sismex XT-1800i;
 - Idade gestacional foi definida pela data da última menstruação
-

(DUM) ou ECO precoce (com menos de 20 semanas), confirmada pela estimativa feita pelo método de Capurro.

- Peso ao nascer: obtido do prontuário do paciente (expresso em gramas);
 - Adequação entre peso/idade gestacional: os recém-nascidos foram classificados em três grupos, segundo as curvas de crescimento intra-uterino de Usher e Mclean.¹ Foram considerados adequados para idade gestacional (AIG) os recém-nascidos que se situarem dentro da faixa de dois desvios-padrão acima ou abaixo da média; grandes para idade gestacional (GIG) quando acima desta faixa; e pequenos para idade gestacional (PIG) quando abaixo da faixa;
 - Sexo: obtido através do exame físico do recém-nascido;
 - Escore de Apgar (1º e 5º minutos de vida): obtido do prontuário;
 - Critérios diagnósticos: os recém-nascidos que desenvolverem DR durante as primeiras 24 horas de vida foram classificados como tendo SDR, TTRN ou DRMD, conforme os critérios descritos anteriormente (item 4.2);
 - Tempo de oxigenioterapia: o tempo em oxigenioterapia foi considerado curto (<24 horas), médio (entre 24 e 71 horas) ou longo (> 72 horas);
-

•FiO₂ máxima: foi definida com a Fio₂ máxima usada (por um período maior que uma hora contínua). A dificuldade respiratória foi considerada leve se A FiO₂ máxima fosse <0,4 e grave se >0,4 para que fosse mantida uma saturação transcutânea entre 90 e 95%.

2.3 Coleta do Material

A sondagem e a aspiração gástrica é um procedimento de rotina na UTI Neonatal do Hospital Moinhos de Vento. O aspirado geralmente é desprezado. Utilizamos este material, coletado dentro dos 30 minutos de vida, para realização da CCL e TME.

Assim, uma amostra de AG foi obtida de todos os bebês por sondagem gástrica nos primeiros 30 minutos de vida para realização do TME e CCL.

2.3.1 Material Necessário:

- Fracos tipo Eppendorf de 2ml para armazenamento das amostras;
 - Microscópio com lâminas e pipetas para TME – disponível na Unidade de Neonatologia;
 - Contador Eletrônico de Plaquetas (Sysmex) – disponível no Laboratório de
-

Hematologia do HSL-PUCRS.

O material coletado na no Hospital Moinhos de Vento foi transportado acondicionado em caixa de isopor com gelo seco.

2.3.2 Testes das Microbolhas Estáveis

Após a coleta, a amostra do AG foi congelada a -20°C . O teste era realizado pela autora, de maneira cega, entre 48 e 96 horas do início do congelamento, de acordo com a técnica descrita por Pattle et al² com pequenas modificações. A técnica é utilizada de rotina para diagnóstico de SDR nos pacientes da UTI-Neonatal do HSL-PUCRS.^{2,3}

As dosagens eram realizadas no HSL-PUCRS, sendo que o material coletado na UTI-Neonatal do Hospital Moinhos de Vento foi transportado acondicionado em caixa de isopor com gelo seco.

Para a realização do teste as amostras foram descongeladas em ar ambiente. Após, o material foi suavemente homogeneizado, então, uma amostra de 40 microlitros foi aspirada através de seringa de insulina e colocada sobre lâmina micrométrica (*Objective Micrometer*, Olympus, Tokyo). Esta amostra foi aspirada e expelida durante 6 segundos (em torno de 20 vezes)

através de uma pipeta de Pasteur de 22 cm de comprimento, acoplada a uma borracha de pipetar, produzindo-se um som característico durante o procedimento. A lâmina micrométrica será imediatamente invertida, de modo a formar uma gota pendente. Essa gota foi examinada após 4 minutos, utilizando-se microscopia de 100 aumentos.

O número de microbolhas com menos de 15 micrômetros em quatro diferentes áreas da gota foi contado, e a quantidade de bolhas em 1 mm² foi calculada a partir da média dessas quatro áreas.

2.3.3 Contagem de Corpos Lamelares (CCL):

Da mesma forma que para o TME, a mesma amostra do aspirado gástrico era congelada a -20°C. Entre 48 e 96 horas a amostra era transportada para o Laboratório de Hematologia do Hospital São Lucas para a realização da CCL, num analisador eletrônico de células.

A quantidade necessária de aspirado gástrico utilizada era de 50µl a

100µl O volume da amostra era colocado em um tubo de ensaio contendo solução dithiothreitol.

Para realizar a CCL, foi diluído dithiothreitol[®] - DTT (Invitogen, Califórnia, United States) e diluído em água- 10mg/ml- foi preparado. O aspirado gástrico era congelado em tubos Eppendorf para uso. O restante do aspirado gástrico usado para a CCL era de 50µl a 100µl. As amostras eram colocadas em tubos contendo o diluente DTT na proporção de 1 parte de aspirado gástrico para 6 partes de DTT. Esta amostra de diluente era agitada por 10 segundos no aparelho Vortex Ap 56. (Phoenix, Araraquara, Brasil), e finalmente o material era aspirado pelo Sysmex XT-1800i, contador de células(Sysmex Corporation, Japan).O DTT foi comprado pela pesquisadora. O número de plaquetas contado representava o número de corpos lamelares.

2.3.3.1 Contador automático de células (Sysmex XT-1800i)

O princípio usado pelo aparelho XT-1800i (figura 1) para contagem de plaquetas é o da resistência elétrica ou impedância + foco hidrodinâmico. O canal deste aparelho analisa hemáceas e plaquetas e mede 75 micrômetros. As células sanguíneas são diluídas por um reagente condutor de eletricidade. Como existe uma grande diferença na condutividade elétrica ou resistência entre as células e o reagente diluente, as células podem ser analisadas tanto

em quantidade como em tamanho, detectando e medindo esta diferença em resistência.



Figura 1: Aparelho contador hematológico de células Sysmex XT1800i

Depois, essa amostra diluída atravessa uma câmera cônica e passa pelo centro da abertura. Esse princípio é conhecido como foco hidrodinâmico que funciona como fluxo laminar para assegurar que as células atravessem a abertura uma de cada vez. O foco hidrodinâmico elimina erros na contagem de hemáceas e plaquetas, tais como coincidência, re-circulação de células e distorção de células associadas com os métodos tradicionais de análise.

Quando uma célula sanguínea passa através da abertura, aumenta a resistência elétrica entre os eletrodos, causando uma alteração de voltagem entre os eletrodos proporcionais à alteração da resistência e ao volume ciliar que passa através da abertura gerando um pulso celular. O resultado dos

tamanhos dos pulsos são observados na forma de uma curva de distribuição do tamanho de partículas, que reflete o tamanho das células sanguíneas.

2.4 Análise Estatística

Os dados foram processados e analisados com o auxílio dos programas Excel 2003 e SPSS versão 10.0.

Para descrição das variáveis quantitativas e qualitativas foram utilizadas estatísticas descritivas como média, mediana, mínimo e máximo.

Para verificar a existência de diferença entre os grupos com e sem TTRN, utilizou-se o teste Kruskal-Wallis. O nível de significância foi $p < 0,05$.

Foram realizados os cálculos das medidas de desempenho dos testes e respectivos limites de confiança (95%) para diagnóstico de deficiência de função e/ou produção de surfatante.

2.5 Aspectos Éticos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS em 22 de setembro de 2006. (ofício 1110/06) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Moinhos de Vento em setembro de 2007. (ofício 2007/46).

Foi solicitado consentimento pós-informado dos pais ou responsáveis pelo recém-nascido.

O pesquisador se comprometeu com a garantia de privacidade das informações a que teve acesso através da presente pesquisa, não utilizando os dados dos pacientes ou dos testes realizados para intervenção na conduta terapêutica ou utilizá-los de forma que possa expor os pacientes a riscos morais ou éticos.

A sondagem gástrica é um procedimento de rotina na recepção de todos os recém-nascidos a termo e prematuros. Além disso, o AG já é usualmente coletado rotineiramente nas maternidades.

2.6 REFERÊNCIAS

1. Uscher R, Mclean F. Intrauterine growth of live-born Caucasian infants at sea level: standards obtained from measurements in 7 dimensions of infants born between 25 and 44 weeks of gestation. *J of Pediatrics* 1969;74:901-10.
 2. Pattle RE, Kratzing CC, Parkinson CE, Graves L, et al. Maturity of fetal lungs tested by production of stable microbubbles in amniotic fluid. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 1979; 86:615-22.
 3. Eckert Seitz E, Fiori HH, Luz JH, Fiori RM. Stable microbubble test on tracheal aspirate for the diagnosis of respiratory distress syndrome. *Biol Neonate*. 2005;87:140-4.
-

CAPÍTULO III

3 ARTIGO ORIGINAL

Página de rosto

Título do artigo: Avaliação da produção e função surfatante através de testes de maturidade pulmonar no aspirado gástrico de recém-nascidos com taquipnéia transitória

Liane Unchalo Machado¹, Renato Machado Fiori².

1. Mestranda, Programa de Pós-graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS).

2. Professor Titular, Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança, PUCRS.

Endereço para correspondência

Liane Unchalo Machado e-mail: liane.unchalo@terra.com.br

Endereço: - Rua Barão do Gravataí, 744 – Ap. 3 - Bairro: Menino Deus.

Porto Alegre – RS

Telefone: (51) 91177556

RESUMO

INTRODUÇÃO: Taquipnéia transitória do recém-nascido (TTRN) é uma causa freqüente de dificuldade respiratória nos primeiros dias de vida e tem sido atribuída, basicamente, a um retardo na absorção do líquido pulmonar fetal. Tem sido levantada suspeita de que uma deficiência ou disfunção do sistema surfactante esteja envolvida na patogênese da doença.

OBJETIVO: Quantificar os corpos lamelares e a função surfatante, no aspirado gástrico de recém-nascidos a termo, nascido de parto cesáreo, com diagnóstico clínico inicial de taquipnéia transitória, através da contagem destes corpos e do teste das microbolhas estáveis (TME).

MÉTODOS: Foi realizado um estudo caso-controle incluindo 42 pacientes com idade gestacional ≥ 37 semanas de gestação (21 com diagnóstico clínico inicial de TTRN e 21 sem disfunção respiratória), todos nascidos de parto cesáreo, tendo sido feito nestes recém-nascidos aspirado gástrico nos primeiros minutos de vida para a CCL e para o TME. Os pacientes com dificuldade respiratória foram seguidos clinicamente para avaliação da gravidade do quadro respiratório. A dificuldade técnica na feitura da CCL, devido à consistência espessa da secreção gástrica, foi superada pelo uso de um fluidificante (dithiothreitol).

RESULTADOS: Os pacientes com TTRN e controles eram comparáveis no que se refere ao peso ao nascer, idade gestacional, sexo e escore de Apgar Na comparação entre os grupos a contagem dos corpos lamelares e das microbolhas estáveis foi significativamente menor no grupo com TTRN (CCL $68.000 \pm 56.000/\mu\text{L}$ x $129.000 \pm 72.000/\mu\text{L}$ – $p=0,004$ e TME 48 ± 39 x 81 ± 33 microbolhas/ mm^2 – $p=0,013$). Os recém-nascidos com TTRN que ficaram mais de 24 horas após o nascimento em oxigênio tiveram uma CCL significativamente mais baixa que os que ficaram menos de 24 horas em oxigênio (41.000 ± 25.000 x 104.000 ± 66.000 - $p=0,029$). Quando o ponto de corte foi de 48 horas o valor de p foi 0,055. Com relação ao TME observou-se diferença significativa apenas no ponto de corte de 48 horas (28 ± 31 x 56 ± 39 microbolhas/ mm^2 - $p=0,047$).

CONCLUSÕES: Os dados sugerem que recém-nascidos a termo com TTRN têm uma baixa produção de corpos lamelares associada, a uma reduzida função surfatante, e que quanto maiores forem estas alterações maior chance da criança ter uma doença mais prolongada.

DESCRITORES: Taquipnéia transitória do recém-nascido, Surfactante pulmonar, Teste das microbolhas estáveis, Contagem de corpos lamelares, recém-nascidos.

ABSTRACT

BACKGROUND: Transient tachypnea of the newborn (TTN) is a frequent cause of respiratory distress in the first days of life and has been attributed, basically, to a delay of absorption of lung fetal fluid. It has been suspected that surfactant deficiency plays a role in the pathogenesis of the disease.

OBJECTIVE: The objective of this study was to quantify lamellar bodies and to evaluate surfactant function in gastric aspirates of term newborn infants, born through cesarean section, with the initial clinical diagnosis of TTN, through the lamellar body count (LBC) and the stable microbubble test (SMT).

METHODS: It was performed a case-control study in 42 patients with gestational age ≥ 37 weeks (21 with initial clinical diagnosis of TTN, and 21 without respiratory distress), all born of cesarean section, being done in these newborns gastric aspirate for LBC and SMT in the first minutes of life. The patients with respiratory distress were followed clinically to evaluate the severity of the respiratory distress. The technical difficulty to perform the LBC, due to the thickness of the gastric fluid was overcome by the use of a fluidifier (dithiothreitol).

RESULTS: The patients with TTN and controls were comparable as far as birth weight, gestational age, gender and Apgar score. When comparing the groups the LBC and the stable microbubbles were significantly lower in the TTN group (LBC $68,000 \pm 56,000/\mu\text{L}$ x $129,000 \pm 72,000/\mu\text{L}$ – $p=0.004$ e SMT 48 ± 39 x 81 ± 33 microbubbles/ mm^2 – $p=0,013$).

The newborn infants with TTN who stayed more than 24 hours after birth in oxygen had a LBC significantly lower than the infants who stayed less than 24 hours in use of oxygen ($41,000 \pm 25,000$ vs. $104,000 \pm 66,000$ - $p=0,029$). When the cutoff point was 48 hours the p value was 0.055. As far as the SMT it was observed a significant difference only with the cutoff point of 48 hours. (28 ± 31 x 56 ± 39 microbubbles/ mm^2 - $p=0,047$).

CONCLUSIONS: The data suggest that term newborn infants with TTN have low production or/and destruction of lamellar bodies associated to decreased surfactant function and that the more significant are these alterations more chances will have the infant of a more prolonged disease.

KEY WORDS: Transient tachypnea of the newborn, Pulmonary surfactant, Stable microbubble test, Lamellar body count.

INTRODUÇÃO

A taquipnéia transitória do recém-nascido (TTRN) é uma causa freqüente de desconforto respiratório nos primeiros dias de vida. Foi descrita primeiramente por Avery et al em 1966.¹ Os recém-nascidos com essa síndrome apresentam graus variados de taquipnéia, podendo também apresentar outros sinais de dificuldade respiratória tais como batimento de asas nasais, retrações subcostais e intercostais e gemido expiratório. Estes recém-nascidos geralmente necessitam de concentrações baixas de oxigênio (usualmente uma $FiO_2 < 0,40$) para manter uma saturação adequada do sangue arterial. Crepitações não são freqüentes. Os sintomas costumam persistir por dois a cinco dias. Os sinais radiológicos característicos da TTRN são estrias partindo dos hilos pulmonares, hiperinsuflação pulmonar, evidência de líquido intersticial e pleural, cissuras interlobares proeminentes e cardiomegalia.^{2,3}

Fatores de risco descritos incluem diabetes, parto cesáreo, parto cesáreo sem trabalho de parto, sedação materna, asfixia perinatal moderada, asma materna, exposição a agentes betamiméticos, policitemia e hipervolemia.⁴⁻⁹ O trabalho de parto reduziria a incidência de TTRN principalmente pelo estímulo à produção de catecolaminas, levando a um aumento da reabsorção do líquido pulmonar e preservação do sistema surfactante.¹⁰⁻¹³ A alta freqüência de TTRN em partos cesáreos e estudos experimentais em animais, mostrando um atraso na absorção do fluido pulmonar logo após o nascimento por cesariana, sugerem esta associação¹⁴.

Entretanto, há algumas evidências de que uma moderada disfunção ou deficiência da produção de surfatante pulmonar esteja associada a esta síndrome. Baixos níveis de fosfatidilglicerol no fluido pulmonar e no líquido amniótico foram encontrados em pacientes com TTRN e níveis baixos de fosfatidilcolina e fosfatidilinositol também foram observados.¹⁵⁻²⁰

Penn et al analisaram a presença de fosfatidilglicerol (FG) e a relação lecitina/esfingomielina (L/E) no líquido amniótico, definindo uma relação $L/E < 2$ e um FG negativo como indicativo de deficiência de surfactante (pulmão imaturo), uma relação $L/E \geq 2$ e um FG negativo como indicativo de imaturidade parcial e uma relação $L/E \geq 2$ e um FG positivo como indicativo de maturidade pulmonar.¹⁶ Seis dos recém-nascidos com imaturidade parcial não desenvolveram dificuldade respiratória após o nascimento e sete desenvolveram TTRN, necessitando de tratamento em unidade de tratamento intensivo neonatal. Os caracterizados como tendo pulmão maduro não desenvolveram desconforto respiratório e os com pulmão imaturo desenvolveram síndrome do desconforto respiratório.

James et al observaram associação entre TTRN e deficiência de fosfolipídio (fosfatidilcolina, fosfatidilglicerol) no líquido amniótico. Sugeriram que esta deficiência poderia ser secundária ao acúmulo de fluido pulmonar, danificando o epitélio alveolar.²⁰ Staub, entretanto, sugere que a anormalidade do sistema surfatante poderia ser um problema primário, pois a falta de surfactante aumentaria a tensão superficial alveolar causando edema

pulmonar.²¹ Nestes casos seria feito o diagnóstico de TTRN e não de síndrome do desconforto respiratório do recém-nascido (SDR) e a principal manifestação de deficiência de surfactante seria acúmulo de fluido pulmonar, e não atelectasias. Atelectasias não seriam os achados dominantes porque seus pulmões já tinham um certo nível de maturidade pulmonar e a presença de líquido pulmonar poderia prevenir os colapsos alveolares.

Há relato também de aumento da frequência de testes do “click” negativos no aspirado traqueal e gástrico de pacientes com TTRN²² e em estudos prévios realizados em nossa instituição foi observada uma redução na contagem de microbolhas estáveis no aspirado gástrico destes pacientes, sugerindo uma produção insuficiente ou uma disfunção do sistema surfatante, associadas a esta síndrome.²³ Este último teste, desenvolvido por Pattle²⁴ tem mostrado boa acurácia para definir a presença de imaturidade pulmonar. É um teste simples e rápido podendo ser realizado no líquido amniótico,²⁵⁻²⁸ no aspirado traqueal²⁹⁻³¹ e no aspirado gástrico.³²⁻³⁶

Outro teste que tem ganho aceitação nos últimos anos para a avaliação da maturidade pulmonar fetal é o da contagem de corpos lamelares (CCL) utilizando-se de um contador de células hematológicas, disponível hoje em qualquer laboratório. A técnica foi descrita por Dubin, em 1989, no líquido amniótico.³⁷ Os corpos lamelares tem um diâmetro similar ao das plaquetas permitindo assim sua contagem, como se fossem plaquetas, no canal correspondente do contador de células. A CCL no líquido amniótico passou a

ser considerada mais vantajosa que a relação lecitina/esfingomielina na avaliação da maturidade pulmonar fetal. A quantidade de corpos lamelares estima a produção de surfatante pelos pneumócitos tipo II.

O objetivo deste estudo foi quantificar os corpos lamelares e a função surfatante, no aspirado gástrico de recém-nascidos a termo, nascido de parto cesáreo, com diagnóstico clínico inicial de taquipnéia transitória, através da contagem destes corpos e do teste das microbolhas estáveis (TME).

PACIENTES E MÉTODOS

Foi realizado um estudo caso controle prospectivo no Hospital Moinhos de Vento e no Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica, Rio Grande do Sul, Brasil, de setembro de 2007 a setembro de 2008.

Recém-nascidos de parto cesáreo, com idade gestacional ≥ 37 semanas, com diagnóstico inicial de TTRN, eram incluídos no estudo. Para cada recém-nascido com este diagnóstico era incluído um controle, também nascido de parto cesáreo, desta mesma faixa de idade gestacional. Esta foi determinada pela data da última menstruação, confirmada por ecografia obstétrica antes de 20 semanas de gestação. Não eram incluídos recém-nascidos que

apresentassem líquido amniótico meconial ruptura prematura de membranas (>18 horas) e evidências de corioamnionite. Pacientes com malformações congênitas ou doenças respiratórias específicas que não TTRN e SDR também não eram incluídos no estudo. Os critérios para diagnóstico de TTRN eram a presença de taquipnéia (frequência respiratória >60 movimentos por minuto) e necessidade de oxigênio suplementar por mais de 6 horas para manter uma saturação transcutânea entre 90-95%, associadas a um padrão radiológico compatível com o diagnóstico (infiltrado bilateral caracterizado por estrias partindo do hilo, presença de líquido intercissural ou pleural e hiperinsuflação pulmonar).

A coleta do aspirado gástrico era realizada dentro dos primeiros 30 minutos de vida com uma sonda nº 6 ou nº 8, adaptada a uma seringa de 20ml.

Nos pacientes com dificuldade respiratória era realizado um estudo radiológico de pulmões dentro das primeiras 12 horas de vida. Os controles, sem dificuldade respiratória, não eram submetidos a exame radiológico. O estudo radiológico era avaliado independentemente por 2 (dois) radiologistas pediátricos, com experiência em radiologia neonatal. De acordo com a interpretação dos radiologistas os pacientes com dificuldade respiratória eram classificados como tendo TTRN típica, SDR típica ou um raio-x mal definido ou normal. O raio-x era considerado mal definido se ambos os radiologistas concordassem que não era característico de TTRN ou de outra doença pulmonar ou se houvesse discordância entre eles acerca do diagnóstico.

O material era codificado para que o operador não soubesse se tratava de um caso de TTRN ou de um controle normal e congelado a -20°C até que fosse examinado.

Entre 48 e 96 horas após o nascimento as amostras eram descongeladas a temperatura ambiente para a realização da CCL e do TME.

Para realizar a CCL, dithiothreitol[®] DTT (Invitrogen, California, United States) em água destilada – 10mg/ml era preparado previamente e mantido congelado a -20°C em tubos Eppendorf até seu uso. A quantidade de aspirado gástrico utilizado para cada CCL era de 50 a 100 μl . A amostra era colocada em um tubo de ensaio com solução diluída de dithiothreitol na proporção de uma parte de aspirado gástrico para 6 partes de DTT. A amostra diluída passava pelo agitador de tubos Vortex Ap 56 (Phoenix, Araraquara, Brasil), por 10 segundos. Após, o material era aspirado pelo contador automático de células Sysmex XT-1800i (Sysmex Corporation Japão). O DTT utilizado foi adquirido no comércio pelos pesquisadores. O número de plaquetas contado era considerado como o número de corpos lamelares. No aparelho Sysmex as dimensões aceitáveis para plaquetas variam de 2 a 30fl .

O TME era realizado conforme a metodologia descrita por Pattle et al.²⁴ com pequenas modificações.³¹

Os dados perinatais, o tempo total em oxigênio suplementar, a fração máxima de oxigênio inspirado (FiO_2), a necessidade de suporte ventilatório e a administração de surfatante exógeno eram registrados.

Foi realizada uma análise descritiva utilizando média, mediana, mínima e máxima para as variáveis quantitativas e proporções para as variáveis qualitativas. Para verificar a existência de diferenças entre os grupos com e sem TTRN, utilizou-se o teste Kruskal-Wallis.

Foi considerado estatisticamente significativo o valor de $p < 0,05$.

Este estudo foi aprovado pelas comissões de ética em pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul e do Hospital Moinhos de Vento.

RESULTADOS

Um total de 42 pacientes foram incluído no estudo, sendo 21 com diagnóstico clínico inicial de TTRN e 21 sem dificuldade respiratória. Os dois radiologistas pediátricos consideraram que 16 dos 21 pacientes com dificuldade respiratória apresentavam um raio-x característico de TTRN e 5 deles um raio-x não típico nem de TTRN nem de outra doença respiratória específica. Nenhum

paciente teve o diagnóstico radiológico de síndrome do desconforto respiratório do recém-nascido típico.

As características principais dos pacientes com diagnóstico de TTRN inicial ao nascimento e dos controles estão mostradas na tabela I. Os pacientes eram comparáveis no que se refere ao peso ao nascer, idade gestacional, sexo e escore de Apgar.

Tabela 1. Características dos pacientes com o diagnóstico inicial de taquipnéia transitória e dos controles.

| | Média | DP | Mediana | Min. | Máx. | P |
|-----------------|---------|-----|---------|------|------|-------|
| Peso (g) | | | | | | |
| TTRN | 3168 | 408 | 3165 | 2360 | 3835 | 0,597 |
| Controles | 3122 | 413 | 2980 | 2540 | 3920 | |
| IG (semanas) | | | | | | |
| TTRN | 37,6 | 0,7 | 37 | 37 | 39 | 0,506 |
| Controles | 37,6 | 0,7 | 38 | 37 | 39 | |
| Sexo Masculino | | | | | | |
| TTRN | 12(57%) | - | - | - | - | 0,764 |
| Controles | 11(52%) | - | - | - | - | |
| Apgar 1º minuto | | | | | | |
| TTRN | 7,7 | 1,9 | 8 | 2 | 9 | |
| Controles | 8,5 | 0,5 | 8 | 8 | 9 | 0,071 |
| Apgar 5º minuto | | | | | | |
| TTRN | 9,3 | 0,5 | 9 | 7 | 10 | |
| Controles | 9,0 | 0,7 | 9 | 9 | 10 | 0,251 |

TTRN = Taquipnéia transitória do recém-nascido; IG = Idade gestacional

Nenhum paciente com TTRN fez uso de pressão positiva contínua. Dois pacientes foram colocados em ventilação mecânica, um por 24 horas e o outro por apenas duas horas. Estes 2 pacientes mais um terceiro receberam uma dose de surfatante. Os 3 pacientes pertenciam ao grupo em que o diagnóstico radiológico foi de TTRN típica. Nenhum recém-nascido caracterizado radiologicamente como tendo raio-x mal definido fez uso de ventilação mecânica e surfactante exógeno.

O resultado da contagem dos corpos lamelares e das microbolhas no aspirado gástrico dos pacientes com TTRN e controles é mostrados na tabela 2. Observou-se uma diferença estatisticamente significativa entre os 2 grupos de recém-nascidos ($p=0,004$ na comparação da CCL e $p=0,013$ na contagem de microbolhas estáveis). Quando analisados apenas os 16 pacientes com TTRN radiologicamente típica comparados com os controles a diferença estatística persistiu para a CCL ($p=0,006$), enquanto que para o TME o valor de p foi de 0,051).

Com o ponto de corte de 70.000 corpos lamelares/ μL e 35 microbolhas estáveis/ mm^2 a sensibilidade e a especificidade dos testes para o estabelecimento do diagnóstico de TTRN foi de 71% e 71% respectivamente para a CCL e 71% e 91% para o TME.

A média e o desvio padrão do tempo de uso de oxigênio pelos pacientes com TTRN foi em média $37,3\pm 34,1$ horas. Os 5 pacientes que tinham raio-x não típico de TTRN permaneceram em média menos tempo em oxigênio

(27,2±25,7 horas). Não se observou diferença estatisticamente significativa entre estes 2 grupos.

Tabela 2. Contagem comparativa de corpos lamelares e microbolhas estáveis em recém-nascidos com TTRN e controles.

| | N | Média | DP | Mediana | Mínimo | Máximo | P |
|------------|----|---------|--------|---------|--------|---------|-------|
| CCL | | | | | | | |
| TTRN | 21 | 68.000 | 56.000 | 63.000 | 7.000 | 203.000 | |
| Controles | 21 | 129.000 | 72.000 | 119.000 | 28.000 | 259.000 | 0,004 |
| TME | | | | | | | |
| TTRN | 21 | 48 | 39 | 29 | 4 | 122 | |
| Controles | 21 | 81 | 33 | 80 | 22 | 156 | 0,013 |

TTRN = Taquipnéia transitória do recém-nascido; DP = Desvio padrão; CCL = Contagem de corpos lamelares/ μL ; TME = Teste das microbolhas estáveis (microbolhas/ mm^2)

Os recém-nascidos que ficaram mais de 24 horas em oxigênio tiveram uma contagem de corpos lamelares significativamente mais baixa que os recém-nascidos que ficaram menos de 24 horas em oxigênio ($p = 0,029$) – Tabela 3. Quando o ponto de corte foi de 48 horas o valor de p foi limítrofe ($p = 0,055$). Com relação ao TME observou-se diferença significativa apenas no ponto de corte de 48 horas ($p = 0,047$). Por outro lado, não foi observada

diferença estatisticamente significativa nas contagens quando comparados os recém-nascidos que necessitaram uma $FiO_2 < 0.40$ ou ≥ 0.40 .

Tabela 3. Comparação da contagem de corpos lamelares e de microbolhas estáveis de acordo com o tempo em oxigênio (mais ou menos de 24 e de 48 horas) e FiO_2 máximo utilizado (mais ou menos de 0.40).

| | N | Média | DP | Mediana | Mínimo | Máximo | P |
|----------------|----|---------|--------|---------|--------|---------|-------|
| CCL | | | | | | | |
| <24h | 9 | 104.000 | 66.000 | 105.000 | 7.000 | 203.000 | |
| >24h | 12 | 41.000 | 25.000 | 32.000 | 7.000 | 84.000 | 0,029 |
| TME | | | | | | | |
| <24h | 9 | 59 | 42 | 65 | 4 | 122 | |
| >24h | 12 | 39 | 35 | 28 | 8 | 102 | 0,255 |
| CCL | | | | | | | |
| <48h | 15 | 81.000 | 59.000 | 70.000 | 7.000 | 203.000 | |
| >48h | 6 | 35.000 | 28.000 | 25.000 | 7.000 | 77.000 | 0.055 |
| TME | | | | | | | |
| <48h | 15 | 56 | 39 | 35 | 4 | 122 | |
| >48h | 6 | 28 | 31 | 14 | 8 | 89 | 0,047 |
| CCL | | | | | | | |
| $FiO_2 < 0,40$ | 10 | 88.000 | 63.000 | 74.000 | 7.000 | 203.000 | |
| $FiO_2 > 0,40$ | 11 | 49.000 | 43.000 | 28.000 | 7.000 | 140.000 | 0,129 |
| TME | | | | | | | |
| $FiO_2 < 0,40$ | 10 | 60 | 41 | 51 | 4 | 122 | |
| $FiO_2 > 0,40$ | 11 | 37 | 35 | 25 | 8 | 105 | 0,139 |

FiO_2 = Fração de oxigênio inspirado; DP = Desvio padrão; CCL = Contagem de corpos lamelares; TME = Teste das microbolhas estáveis

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo confirmam a associação, previamente descrita, entre alteração no sistema surfactante e o diagnóstico de Taquipnéia Transitória do recém-nascido. A utilização somente de bebês a termo submetido à cesariana eletiva permite uma redução de potenciais fatores de confusão possivelmente presentes em estudos anteriores.^{4,5,6,14.}

Além disto, foi utilizada a contagem de corpos lamelares e de microbolhas estáveis, o que permite uma análise de produção e função do surfactante na secreção gástrica destes bebês. Os corpos lamelares são estruturas onde são armazenadas as substâncias surfatante nos pneumócitos tipo II. Estes corpúsculos são eliminados para o interior dos alvéolos pulmonares por exocitose. Parte deles transforma-se em mielina tubular, vindo suas moléculas a formar a camada que se distribui na interface ar-líquido, reduzindo a tensão superficial alveolar. Parte destes corpúsculos são dispersos pela via aérea, podendo ser encontrados no líquido amniótico e no suco gástrico do feto. Sua quantidade no líquido amniótico estima a produção de substâncias surfactantes e assim o estado de maturação pulmonar do feto. A contagem de corpos lamelares na secreção gástrica de recém-nascidos somente recentemente passou a ser utilizada em nosso meio pelas dificuldades impostas pelas características da secreção: é um líquido espesso, não homogêneo, com grumos, havendo dificuldade de processá-lo no contador de células. Este

problema foi solucionado, em estudo recente, pela utilização de um fluidificante eficaz para liquefazer e homogeneizar o suco gástrico. Neste mesmo estudo o processo de congelamento destas amostras diluídas em dithiothreitol por até 72 horas também não alterou a contagem de modo significativo.

No presente estudo, realizado apenas em recém-nascidos a termo, todos nascidos por cesariana, além da mais baixa contagem de microbolhas foi observado uma redução significativa na contagem de corpos lamelares, confirmando a observação anterior em estudo realizado em pacientes com idade gestacional ≥ 34 semanas com TTRN.³⁹ O fato de ambos os testes estarem alterados sugere que a função surfactante esteja reduzida devido a uma menor produção, não por simples inibição da função surfactante. Entretanto, a alternativa de destruição dos corpos lamelares nas vias aéreas como causa da diminuição da função surfactante, embora muito improvável, não pode ser totalmente excluída.

Recém-nascidos a termo, em que a síndrome de desconforto respiratório é muito menos freqüente, muitas vezes, apresentam logo após o nascimento um quadro de dificuldade respiratória leve ou moderada rotulada pelos neonatologistas de TTRN. Porém, muitas destas crianças apresentam uma dificuldade respiratória mais grave, necessitando oxigênio suplementar por um tempo mais prolongado e em concentrações mais altas, alguns necessitando de pressão positiva contínua e mesmo ventilação mecânica. Alguns apresentam hipertensão pulmonar persistente como uma complicação

associada. Os resultados deste trabalho sugerem que na maioria dos casos de dificuldade respiratória destes bebês a termo, nascidos por cesariana, existe alteração quantitativa e funcional do sistema surfactante.

A TTRN é tradicionalmente considerada uma síndrome causada pela retenção de líquido pulmonar. Entretanto, tem sido sugerido que o aumento da tensão superficial secundária à deficiência de surfactante induza ao aumento de líquido intersticial pulmonar. As evidências deste estudo e de outros corroboram com este possível mecanismo. Também é possível que, dentro do quadro clínico frequentemente diagnosticado como TTRN, possam estar presentes síndromes semelhantes com etiologias diferentes, porém de difícil diferenciação. Os resultados das interpretações dos exames radiográficos não tiveram associação com os resultados dos testes de maturidade pulmonar e houve discordância na interpretação apenas em 5 dos 21 pacientes. Nestes bebês a termo, mesmo que tenham deficiência de surfactante, é possível que por terem maior força muscular e uma caixa torácica menos complacente em relação ao prematuro, o componente de atelectasia alveolar seja menos proeminente e visível e que a pressão negativa gerada pela sua musculatura intensifiquem o edema intersticial, aumentando a retenção de líquido e por conseguinte aumentando as características radiológicas associadas à retenção de líquido pulmonar.

É difícil prever a evolução destes quadros respiratórios de recém-nascidos a termo. Na prática clínica, pacientes com o diagnóstico inicial de TTRN que

evoluem para um quadro mais grave, mesmo quando necessitam de ventilação mecânica, frequentemente não recebem surfactante exógeno, pois a dificuldade respiratória não é atribuída à deficiência de surfactante. Portanto, nestes casos mais graves, a utilização de um teste de avaliação da maturidade pulmonar poderia auxiliar na decisão de se utilizar surfactante de modo menos tardio.

Tentou-se estabelecer com os dados obtidos neste estudo os melhores pontos de corte para o diagnóstico de TTRN. Diferentemente do encontrado para o diagnóstico de síndrome de desconforto respiratório a CCL e o TME não mostraram suficiente acurácia para definir o uso precoce de surfactante em pacientes com o diagnóstico clínico inicial de TTRN. Entretanto, contagens baixas, que sugerem deficiência de surfactante, indicam uma maior probabilidade de uma doença mais prolongada e podem auxiliar na decisão de se usar terapia surfactante em casos de agravamento progressivo da doença.

Em conclusão, os dados deste estudo sugerem que recém-nascido a termo com TTRN tem uma baixa produção de corpos lamelares associada, a uma reduzida função surfatante, e que quanto maiores forem estas alterações maior chance da criança ter uma doença mais prolongada.

REFERÊNCIAS

1. Whitsett JA, Pryhuber GS, Rice WR, Warner BB, Wert SE. Acute Respiratory Disorders. In: Avery GB, Fletcher MA, MacDonald MG. Neonatology. Pathophysiology and Management of the Newborn. 5th ed. Philadelphia, JB. Lippincott Company. 1999; pp 485-508.
 2. Wesenberg RL, Graven SN, McCabe EB. Radological findings in wetlung disease. Radiology. 1971;98:69-74.
 3. Swischuk LE. Transient respiratory distress of the newborn (TRDN). A temporary disturbance of a normal phenomenon. Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med. 1970;108:557-63.
 4. Dani C, Reali MF, Bertini G, Wiechmann L, Spagnolo A, Tangucci M, Rubaltelli FF. Risk factors for the development of respiratory distress syndrome and transient tachypnoea in newborn infants. Eur Respir J. 1999;14:155-9.
 5. Rubaltelli FF, Bonafe L, Tangucci M, Spagnolo A, Dani C. Epidemiology of neonatal acute respiratory disorders. Biol Neonate. 1998;74:7-15.
 6. Brice JEH, Walker CHM. Changing pattern of respiratory distress in newborn. The Lancet. 1977;8:752-4.
 7. Morrison JJ, Rennie JM, Milton PJ. Neonatal respiratory morbidity and mode of delivery at term: influence of timing of elective cesarean section. British J Obstet Gynaec. 1995;102:101-6.
 8. Demissie K, Marcella SW, Breckenredge MB, Rhoads GG. Maternal
-

asthma and transient tachypnea of the newborn. *Pediatrics*. 1998;102:84-90.

9. Singhi SC, Chookang E. Maternal fluid overload during labour; transperitoneal hyponatraemia and risk of transient neonatal tachypnoea in term infants. *Arch Dis Child*. 1984;59:1155-8.
 10. Brow MJ, Olver RE, Ramsden CA, Strang LB, Walters DV. Effects of adrenaline and of spontaneous labour on the fetal lamb. *J Physiol*. 1983;344:37-152.
 11. Walters DV, Olver RE. The role of catecholamines in lung liquid absorption at birth. *Pediatr Res* 1978;12:239-42.
 12. Faxelius G, Hagnevik K, Lagercrantz H, Lundell B, Irestedt L. Catecholamine surge and lung function after delivery. *Arch Dis Child*. 1983;262-6.
 13. Greenough A, Lagercrantz H. Catecholamine abnormalities in transient tachypnoea of the premature newborn. *J Perinat Med*. 1992;20:223-6.
 14. Howatt WF, Avery ME, Humphreys PW, Normand ICS, Reid L, Strang LB. Factors affecting pulmonary surface properties in the fetal lamb. *Clin Sci*. 1965;29:239-48.
 15. Hallman M, Feldman BH, Kirkpatrick E, Gluck L. Absence of phosphatidylglycerol (PG) in respiratory distress syndrome in the newborn. Study of the minor surfactant phospholipids in newborns. *Pediatr Res*. 1977;11:714-20.
-

16. Penn D, Sommerfeld ES, Heinz L. Postnatal respiratory difficulties associated with “incomplete” surfactant. *Am J Obstet Gynecol* 1982;15:981-2.
 17. Gross TL, Sokol RJ, Kwong MS, Wilson M, Kuhnert PM. Transient tachypnea of the newborn: the relationship to preterm delivery and significant neonatal morbidity. *Am J Obstet Gynecol*. 1983;146:236-41.
 18. James DK, Chiswick ML, Harces A, Williams M, Hallworth J. Nonspecificity of surfactant deficiency in neonatal respiratory disorders. *Br Med J* 1984;288:1635-38.
 19. Bourbon JR, Francoual J, Magny JF, Lindenbaum A, Lelue R, Dehan M. Changes in phospholipid composition of tracheal aspirate from newborns with hyaline membrane disease or transient tachypnoea. *Clin Chim Acta*. 1990;189:87-94.
 20. James DK, Chiswick ML, Harces A, Williams M, Tindall VR. Maternal diabetes and neonatal respiratory distress. II. Prediction of fetal lung maturity. *Br J Obstet Gynaecol*. 1984;91:325-9.
 21. Staub NC. Effects of alveolar surface tension on the pulmonary vascular bed. *Jpn Heart J* 1966;7:386-99.
 22. Bhuta T, Kent-Biggs J, Jeffery HE. Prediction of surfactant dysfunction in term infants by the click test. *Pediatr Pulmonol*. 1997;23:287-91.
 23. Fiori HH, Henn R, Baldisserotto M, Bica IG, Fiori RM. Evaluation of surfactant function at birth determined by the stable microbubble test in term and near term infants with respiratory distress. *Eur J Pediatr*. 2004;63:443-8.
-

-
24. Pattle RE, Robards GJ, Sutherland PD. Method for demonstrating difference between surface properties of sheep and human amniotic fluids, and attempting to predict human respiratory distress syndrome (proceedings). *J Physiol.* 1976;263:110-1.
 25. Clements JÁ, Platzker AC, Tierney DF, Hobel CJ, Creasy RK, Margolis AJ, et al. Assessment of the risk of the respiratory-distress syndrome by a rapid test for surfactant in amniotic fluid. *N Engl J Méd.* 1972;286:1077-81.
 26. Parkinson CE, Harvey D, Talbert D. Surface properties of amniotic fluid bubbles. *Biol Neonate.* 1974;25:289-9.
 27. Ashwood ER, Palmer SE, Taylor JS, et al. Lamellar body counts for rapid fetal lung maturity testing. *Obstet Gynecol.* 1993;81:619-24.
 28. Neerhof MG, Haney EI, Silver RK, et al. Lamellar body counts compared with traditional phospholipid analysis as an assay for evaluating fetal lung maturity. *Obstet Gynecol.* 2001;97:305-9.
 29. Friedrich W, Haufe M, Schmalisch G, Wauer RR. The stable microbubble test in tracheal aspirate samples from newborn babies for diagnosis of surfactant deficiency and/or surfactant malfunction. *Biol Neonate.* 1998;73:10-8.
 30. Boo NY, Cheong KB, Cheon SK, Lye MS, Zulfiqar MA. Usefulness of stable microbubble test of tracheal aspirate for the diagnosis of neonatal respiratory distress syndrome. *J Paediatr Child Health.* 1997;33:329-34.
 31. Eckert Seitz E, Fiori HH, Luz JH, Fiori RM. Stable microbubble test on tracheal aspirate for the diagnosis of respiratory distress syndrome. *Biol*
-

Neonate. 2005;87:140-4.

32. Chida S, Fujiwara T, Konishi M, Takahashi H, Sasaki M. Stable microbubble test for predicting the risk of respiratory distress syndrome. II. Prospective evaluation of the test on amniotic fluid and gastric aspirate. *Eur J Pediatr.* 1993;152-6.
 33. Teeratakulpisarn J, Taksaphan S, Pengsaa K, et al. Prediction of idiopathic respiratory distress syndrome by the stable microbubble test on gastric aspirate. *Pediatric Pulmonology.* 1998;25:383-9.
 34. Fiori HH, Linderholm B, Fiori RM, Robertson B. Computerized image analysis of bubble in gastric aspirate for prediction of respiratory distress syndrome. *Acta Paediatr.* 2001;90:1402-4.
 35. Fiori HH, Varela I, Justo AL, Fiori RM. Stable microbubble test and click test to predict respiratory distress syndrome in preterm infants not requiring ventilation at birth. *J Perinat Med.* 2003;31:509-14.
 36. Fiori HH, Carlos C Fritscher, Fiori. RM, Selective surfactant prophylaxis in preterm infants Born at < or =31weeks' gestation using the stable microbubble test in gastric aspirates. *J Perinat Med.* 2006;34:66-70.
 37. Dubin SB. Characterization of amniotic fluid lamellar bodies by resistive-pulse counting: relationship to measures of fetal lung maturity. *Clin Chem.* 1989; 35:612-6.
 38. Roiz-Hernández J, Navarro-Solis E, Carreón-Valdéz E. Lamellar bodies as a diagnostic test of fetal lung maturity. *Int J Gynaecol Obstet.* 2002;77:217-21.
-

39. Daniel IW, Fiori HH, Piva JP, Munhoz TP, Nectoux AV, Fiori RM. Testes rápidos de maturidade pulmonary no aspirado gástrico de recém-nascidos prematuros para o diagnóstico de síndrome do desconforto respiratório. Porto Alegre [dissertação]. [Porto Alegre]: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2008;103p.

CAPITULO IV

4 CONCLUSÃO

1. Recém-nascidos a termo, nascidos de parto cesárea, com TTRN, apresentam redução da contagem de corpos lamelares e microbolhas estáveis quando comparados com recém-nascidos de mesma idade gestacional, também nascidos de parto cesárea, sem dificuldade respiratória.
 2. A CCL mostrou baixa sensibilidade e especificidade para definir o diagnóstico de TTRN. O TME mostrou baixa sensibilidade, porém boa especificidade. Assim, os testes não mostraram suficiente acurácia para que se possa sugerir sua utilização para definir o uso precoce de surfactante em pacientes com o diagnóstico clínico inicial de TTRN.
 3. Os pacientes que permaneceram mais tempo em oxigênio foram aqueles que apresentavam contagens mais baixas de corpos lamelares e de microbolhas estáveis.
-

4. Os dados do estudo sugerem que a deficiência de surfatante pulmonar tem um papel importante na patogênese da doença e que baixas contagens nos testes indicam probabilidade maior de doença mais prolongada.
 5. Os testes poderiam auxiliar na decisão de se usar terapia surfactante em casos de agravamento progressivo da doença.
-

ANEXOS

Anexo 1: Consentimento Pós-Informação

TÍTULO DA PESQUISA: AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO E PRODUÇÃO DE SURFATANTE ATRAVÉS DE TESTES DE MATURIDADE PULMONAR NO ASPIRADO GÁSTRICO DE RECÉM-NASCIDOS A TERMO COM DESCONFORTO RESPIRATÓRIO

Senhores pais,

Estamos realizando um estudo com os recém-nascidos desta UTI Neonatal e para incluir seu filho necessitamos do seu consentimento.

Trata-se de um estudo para avaliar a maturidade pulmonar de recém-nascidos a termo e tentar descobrir porque esses bebês apresentam dificuldade respiratória logo após o nascimento. Conhecendo-se a causa tem-se a possibilidade de tratar melhor estas crianças.

Sabemos que dentro do útero o líquido produzido nos pulmões do feto está em contato com o líquido amniótico (a água do parto) e que este líquido é engolido pela criança. Assim, fazendo-se testes logo após o nascimento com este líquido que está no estômago é possível saber se o pulmão estava ou não pronto para respirar fora do útero. Para isto, precisamos usar o líquido do estômago do seu bebê que é sempre retirado após o nascimento através de uma sonda passada pelo nariz ou pela boca para evitar que a criança vomite e/ou aspire. a passagem da sonda gástrica logo após o nascimento é um procedimento de rotina em todos os recém-nascidos, independente de qualquer protocolo de pesquisa. Este procedimento de aspirar o estômago é feito de rotina em todas as crianças e o líquido retirado é jogado fora. Usaremos este líquido para fazer os exames. Portanto, nada de diferente será feito no seu bebê. Nada mudará no tratamento dele. Além disso, necessitaremos obter alguns dados que estão no prontuário do bebê. Os dados dos prontuários coletados para fim de pesquisa são mantidos em sigilo.

Caso os senhores não autorizem a inclusão de seu bebê no presente estudo, o seu recém-nascido receberá o mesmo tratamento e terá os mesmos direitos que qualquer outro paciente. Os senhores podem, a qualquer momento, solicitar a retirada do seu filho do estudo, sem qualquer prejuízo. Estaremos disponíveis para novas informações sempre que qualquer dúvida ocorrer.

Eu, _____, declaro que li e entendi o que me foi informado e que autorizo a participação no estudo. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Além disso, sei que novas informações, obtidas durante o estudo, me serão fornecidas e que terei liberdade de retirar meu consentimento de participação de meu filho(a) recém-nascido(a) na pesquisa a qualquer momento. Liane Machado certificou-me de que as informações referentes ao meu bebê terão caráter confidencial. Caso tiver novas perguntas sobre este estudo, posso chamar Liane Machado (investigadora) no telefone 32270674. Declaro ainda que recebi cópia do presente Termo de Consentimento.

| | | |
|-------------------------------------|---------------|---------------|
| _____ Assinatura do Pai | _____ Nome | _____ Data |
| _____ Assinatura da Mãe | _____ Nome | _____ Data |
| _____ Assinatura do Investigador | _____ Nome | _____ Data |

Anexo 2: Comitê de Ética em Pesquisa e Comissão Científica do Hospital Moinhos de Vento**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA E COMISSÃO CIENTÍFICA****RESOLUÇÃO**

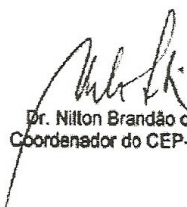
O Comitê de Ética em Pesquisa e a Comissão Científica do Instituto de Educação e Pesquisa Hospital Moinhos de Vento, que é reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/CNS/MS como Comitê de Ética em Pesquisa da Associação Hospitalar Moinhos de Vento - HMV, analisaram o projeto:

Projeto CEP/IEP-AHMV: 2007/46

Título: AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO E PRODUÇÃO DE SUFARTANTE ATRAVÉS DE TESTES DE MATURIDADE PULMONAR NO ASPIRADO GÁSTRICO DE RECÉM-NASCIDOS A TERMO COM DESCONFORTO RESPIRATÓRIO
Pesquisador Responsável: RENATO MACHADO FIORI

Este projeto de pesquisa foi **APROVADO COM RECOMENDAÇÃO**, seguindo as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. O projeto de pesquisa somente poderá ser iniciado mediante o encaminhamento de nova versão do projeto, cumprindo as recomendações mencionadas. Toda e qualquer alteração no projeto deverá ser comunicada ao CEP/IEP-AHMV.

Porto Alegre, 25 de Setembro de 2007.



Dr. Nilton Brandão da Silva
Coordenador do CEP-IEPHMV

**Anexo 3: Comitê de Ética em Pesquisa e Comissão Científica do Hospital
São Lucas da PUCRS**



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Ofício 1239/07-CEP

Porto Alegre, 23 de outubro de 2007.

Senhor(a) Pesquisador(a):

O Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS
apreciou e aprovou sua solicitação em dar seguimento ao protocolo de pesquisa
intitulado: **“Avaliação da função e produção de surfactante através do teste de
microbolhas estáveis e da contagem de corpos lamelares no aspirado gástrico
de recém-nascidos a termo e próximo ao termo com desconforto respiratório”**.

Relatórios parciais e final da pesquisa devem ser
entregues a este CEP.

Atenciosamente,


Prof Dr José Roberto Goldim
COORDENADOR DO CEP-PUCRS

Ilmo(a) Sr(a)
Dr(a) Renato Machado Fiori
N/Universidade

PUCRS

Campus Central
Av. Ipiranga, 6690 – 3º andar – CEP: 90610-000
Sala 314 – Fone Fax: (51) 3320-3345
E-mail: cep@pucrs.br
www.pucrs.br/prppg/cep

Anexo 4: Ficha de Acompanhamento e Controle Clínico

Nome: _____

Reg: _____

Data Nascimento: _____ Hora: _____ Local: _____

Parto () vaginal () cesáreo APGAR 1 min: _____ Apgar 5 min: _____

Peso Nascimento: _____ Comp: _____ PC: _____ Sexo: Fem() Masc()

IGObstétrica (DUM): _____ GPediátrica (NewBallard): _____

US obstétrico: _____ AIG() PIG() GIG()

Corticóide pré-parto: não() sim () Doses: _____ Tempo antes do parto: _____

Patologias maternas: () Diabetes () HAS () Pré-eclâmpsia
() Corioamnionite

() Outra infecção Qual: _____

Bolsa rota: () não () sim Tempo de BR: _____ horas

Retrações costais/intercostais() Gemido expiratório () Cianose ar ambiente ()

FR (mediana 3 contagens de 1 minuto): _____

Início do desconforto respiratório: _____ horas de vida

FiO₂ máxima necessária para SatO₂ 90-95 (após 30 minutos de vida e exceto elevações agudas e breves de FiO₂ (de até 30 minutos) devido intercorrências transitórias): _____

Tempo Total de Oxigênio: _____

CPAP: _____

Ventilação mecânica: _____

Surfactante precoce: () não () sim

Observações:

GRUPO(conforme critério radiológico): _____

Anexo 5: Diagnóstico Radiológico

Nome : _____

Registro: _____

| | Sim | Não |
|---|-----|-----|
| 1. Rx normal | | |
| 2. Retículo-granular difuso | | |
| 3. Opacidade difusa | | |
| 4. Broncograma aéreo difuso | | |
| 5. Estriação (marcas) partindo do hilo | | |
| a) Estriação <input type="checkbox"/> 2/3 dos campos pulmonares | | |
| b) Estriação <input type="checkbox"/> 2/3 dos campos pulmonares | | |
| c) Estriação <input type="checkbox"/> 2/3 dos campos pulmonares | | |
| 6. Hiperinsuflação pulmonar | | |
| 7. Líquido intercisural | | |
| 8. Espessamento pleural | | |
| 9. Bordo cardíaco não nítido | | |
| 10. Aumento de área cardíaca | | |
| 11. Outra alteração | | |
| Qual: | | |

Impressão diagnóstica:

() Taquipnéia Transitória

() Doença Membrana Hialina

() Doença respiratória mal-definida (entre TTRN e DMH)

() Outro

Qual: _____

Anexo 6: Avaliação do Aspirado Gástrico

Tempo de coleta do aspirado gástrico após o nascimento: _____

Tempo de congelamento no momento da análise: _____

1) CCL no aspirado gástrico: _____

Observações:

2) TME no aspirado gástrico: _____ mbe/mm²

Observações:

APÊNDICES

Apêndice 1: Planilha de coletas de dados – Controle

| Grupo | TME | CCL | PESO | SEXO | IGP | IGO | PAT | RAD | B ROTA | CORT | FIO2 MAX | T O2 | Surf.Precoc. |
|-------|-----|--------|------|------|-----|-----|-----|-----|--------|------|----------|------|--------------|
| 1 | 63 | 154000 | 3885 | 1 | 39 | 39 | 0 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 62 | 84000 | 2810 | 1 | 37 | 37 | 0 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 72 | 182000 | 2975 | 2 | 37 | 37 | 5 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 156 | 210000 | 2790 | 2 | 38 | 38 | 0 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 39 | 77000 | 2620 | 1 | 37 | 37 | 0 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 95 | 28000 | 2825 | 1 | 38 | 37 | 3 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 22 | 245000 | 3920 | 2 | 38 | 38 | 1 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 25 | 56000 | 3115 | 1 | 38 | 37 | 4 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 80 | 112000 | 2960 | 1 | 37 | 37 | 0 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 85 | 56000 | 2850 | 1 | 38 | 38 | 0 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 80 | 28000 | 2540 | 2 | 37 | 38 | 4 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 95 | 161000 | 3605 | 2 | 37 | 38 | 0 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 97 | 147000 | 3710 | 2 | 37 | 38 | 0 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 46 | 182000 | 2855 | 2 | 38 | 39 | 0 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 92 | 126000 | 2980 | 1 | 38 | 38 | 0 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 92 | 112000 | 3665 | 2 | 38 | 38 | 0 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 65 | 119000 | 3020 | 1 | 37 | 37 | 0 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 110 | 42000 | 3155 | 1 | 37 | 37 | 0 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 120 | 224000 | 4835 | 2 | 37 | 37 | 0 | 0 | 1 | 1 | | | |
| 1 | 95 | 56000 | 3635 | 1 | 37 | 37 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | | |
| 1 | 120 | 84000 | 3080 | 1 | 37 | 37 | 0 | 0 | 1 | 1 | | | |

Apêndice 2: Planilha de coletas de dados - Casos

| Grupo | TME | CCL | PESO | SEXO | IGP | IGO | PAT | RAD | B ROTA | CORT | FIO2 MAX | T O2 | Surf.Precoc. |
|-------|-----|--------|------|------|-----|-----|-----|-----|--------|------|----------|------|--------------|
| 2 | 35 | 63.000 | 3385 | 2 | 38 | 38 | 0 | 1 | 1 | 1 | 40 | 29 | 1 |
| 2 | 17 | 28000 | 3345 | 2 | 37 | 37 | 1 | 1 | 1 | 1 | 30 | 34 | 1 |
| 2 | 25 | 21000 | 2950 | 2 | 38 | 38 | 4 | 1 | 1 | 1 | 34 | 12 | 1 |
| 2 | 29 | 42000 | 3270 | 1 | 37 | 37 | 1 | 1 | 1 | 1 | 44 | 35 | 1 |
| 2 | 26 | 35000 | 2785 | 1 | 37 | 37 | 0 | 2 | 1 | 1 | 30 | 24 | 1 |
| 2 | 66 | 203000 | 3805 | 2 | 37 | 38 | 1 | 2 | 1 | 1 | 40 | 9 | 1 |
| 2 | 4 | 133000 | 3350 | 1 | 39 | 39 | 0 | 1 | 1 | 1 | 40 | 7 | 1 |
| 2 | 30 | 105000 | 2925 | 2 | 37 | 38 | 1 | 2 | 1 | 1 | 30 | 12 | 1 |
| 2 | 22 | 70000 | 3510 | 1 | 37 | 37 | 0 | 2 | 2 | 1 | 40 | 19 | 1 |
| 2 | 122 | 175000 | 3385 | 2 | 37 | 38 | 7 | 1 | 1 | 1 | 40 | 12 | 1 |
| 2 | 102 | 28000 | 3165 | 1 | 37 | 38 | 0 | 1 | 1 | 1 | 59 | 42 | 1 |
| 2 | 98 | 84000 | 3835 | 1 | 38 | 39 | 0 | 1 | 1 | 1 | 100 | 24 | 1 |
| 2 | 89 | 77000 | 2985 | 1 | 37 | 37 | 1 | 1 | 1 | 1 | 70 | 144 | 2 |
| 2 | 29 | 7000 | 3555 | 1 | 38 | 38 | 0 | 1 | 1 | 1 | 40 | 68 | 1 |
| 2 | 11 | 28000 | 2360 | 2 | 37 | 37 | 6 | 2 | 1 | 1 | 38 | 72 | 1 |
| 2 | 95 | 140000 | 3720 | 1 | 38 | 37 | 1 | 1 | 1 | 1 | 33 | 13 | 1 |
| 2 | 105 | 84.000 | 3120 | 1 | 38 | 38 | 2 | 1 | 1 | 1 | 30 | 15 | 1 |
| 2 | 65 | 7000 | 3115 | 2 | 37 | 37 | 8 | 1 | 1 | 1 | 36 | 8 | 1 |
| 2 | 16 | 14000 | 2700 | 2 | 37 | 37 | 4 | 1 | 1 | 1 | 30 | 58 | 1 |
| 2 | 12 | 63000 | 2595 | 1 | 37 | 37 | 6 | 1 | 1 | 1 | VM 30 | 48 | 2 |
| 2 | 8 | 21000 | 2680 | 1 | 37 | 37 | 6 | 1 | 1 | 1 | VM 30 | 144 | 2 |

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)