

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA  
CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

**DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE CAFEÍNA NO  
SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL DE  
PRÉ-TERMOS E OCORRÊNCIA DE APNEIA NOS  
PRIMEIROS DIAS DE VIDA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CLÁUDIA REGINA HENTGES

Porto Alegre, Brasil

2009

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA  
CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

**DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE CAFEÍNA NO  
SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL DE  
PRÉ-TERMOS E OCORRÊNCIA DE APNEIA NOS  
PRIMEIROS DIAS DE VIDA**

CLÁUDIA REGINA HENTGES

A apresentação desta dissertação é exigência do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre.

**Orientador: Prof. Dr. Renato Soibelman Procianoy**

**Co-orientadora: Dra. Rita de Cássia Silveira**

Porto Alegre, Brasil

2009

## Ficha Catalográfica

**H527d** Hentges, Cláudia Regina

Determinação dos níveis de cafeína no sangue de cordão umbilical de pré-termos e ocorrência de apneia nos primeiros dias de vida / Cláudia Regina Hentges ; orient. Renato Soibelman Procianoy ; co-orient. Rita de Cássia Silveira. – 2009.

100 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente. Porto Alegre, BR-RS, 2009.

1. Apneia 2. Recém-nascido 3. Cafeína 4. Troca materno-fetal 5. Sangue fetal I. Procianoy, Renato Soibelman II. Silveira, Rita de Cássia III. Título.

NLM: WS 420

Ao **Giovani**, por compreender os momentos de ausência e me incentivar de forma incansável para que eu atingisse este objetivo. Também à minha **mãe** pelo apoio nos momentos difíceis e pelo estímulo diário que me ajudaram a concretizar o desafio de escrever esta dissertação.

### **Agradecimento especial**

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Renato Soibermann Procianoy**, e minha co-orientadora, **Dra. Rita de Cássia Silveira**, pela oportunidade de realizar esta pesquisa e pela disponibilidade, incentivo e apoio dispensados.

## Agradecimentos

- A **Deus**, que se faz tão presente em todos os dias de minha vida.
- À minha **avó** (*in memoriam*), pelo legado que me deixou.
- À colega **Dra. Renata Rostirola Guedes**, pelo apoio incansável na coleta de dados.
- A toda a **equipe da UTI neonatal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)**, aos **residentes**, especialmente às ex-R3 **Dra. Rafaela Hermann, Dra. Clarissa Carvalho, Dra. Luciana Teixeira e Dra. Luciana Heidemann**, além dos **plantonistas**, pela atenção dispensada.
- À **equipe de enfermagem** do Centro Obstétrico do HCPA, pela disciplina e abnegação com que colaboraram para a coleta de material.
- À **Dra. Silvana Nader**, pela ajuda na obtenção dos artigos.
- À **Dra. Denise Neves Pereira**, pelo incentivo para que eu iniciasse esta jornada.
- Ao **Dr. Paulo Nader**, pela oportunidade de trabalhar em Neonatologia e pelo incentivo à pesquisa.
- À **Vânia Hirakata**, que teve sempre paciência e disponibilidade por ocasião da análise dos dados estatísticos.
- À **Dra. Carmen Pilla** e à estagiária **Patrícia Trevisan**, do Laboratório de Patologia Clínica, pela dedicação a essa pesquisa.
- A todos os **colegas de trabalho e amigos** que souberam compreender e aceitar as dificuldades deste período.
- Aos **pacientes e seus pais**, que oportunizaram esta pesquisa.
- A **todas as pessoas** que, de alguma forma, colaboraram nesse projeto.

## RESUMO

**Objetivo:** Determinar a influência da presença de cafeína no sangue de cordão umbilical na ocorrência de apneia.

**Métodos:** Estudo de coorte prospectivo de recém-nascidos pretermos com peso de nascimento menor de 2.000 g. Os critérios de exclusão foram: mães que receberam opióides, ventilação mecânica durante os primeiros 4 dias de vida, malformação congênita cerebral e cardíaca maiores, asfixia perinatal, hemorragia peri-intraventricular severa, exsanguíneotransfusão antes do quarto dia de vida e uso de metilxantina antes da extubação. Os recém-nascidos foram divididos em: com e sem cafeína detectável no sangue de cordão umbilical e acompanhados nos primeiros quatro dias de vida para a ocorrência de apneia.

**Resultados:** 87 com e 40 sem cafeína detectável no sangue de cordão umbilical foram estudados. A mediana da concentração de cafeína dos 87 pacientes com cafeína detectável no sangue de cordão umbilical foi 2,3 µg/ml (0,2-9,4 µg/ml). Não houve associação entre a ocorrência de apneia e a presença de cafeína no sangue de cordão umbilical. Recém-nascidos com cafeína detectável no cordão umbilical tiveram apnéia mais tarde (66.3 horas) do que aqueles com níveis indetectáveis (54.2 horas).

**Conclusão:** a detecção de níveis de cafeína no sangue de cordão umbilical não diminuiu a ocorrência de apneia da prematuridade. Nós sugerimos que novos estudos com a administração de altas doses de cafeína para mães antes do parto prematuro, como estratégia para prevenir a apneia da prematuridade, devam ser realizados.

**Palavras-chave:** prematuridade, apnéia da prematuridade, cafeína, recém-nascido de baixo peso, sangue de cordão umbilical



## ABSTRACT

**Objective:** To determine the influence of presence of caffeine in umbilical cord blood on apnea occurrence.

**Methods:** A prospective cohort study with preterm newborns with birth weight less than 2,000 g was undertaken. Exclusion criteria were: mothers that received opioids, mechanical ventilation during the first 4 days of life, cerebral and major cardiac malformations, perinatal asphyxia, severe periintraventricular hemorrhage, exchange transfusion before the fourth day of life, and those that received methylxantine prior to extubation. Neonates were divided in: with detectable and undetectable caffeine in umbilical cord blood. Newborns were followed for the first 4 days for occurrence of apnea spells.

**Results:** 87 with and 40 without detectable caffeine in umbilical cord blood were studied. The median caffeine concentration of the 87 patients with detectable caffeine in umbilical blood was 2.3  $\mu\text{g/ml}$  (0.2-9.4  $\mu\text{g/ml}$ ). There was no association between occurrence of apnea spells and presence of caffeine in umbilical cord blood. Neonates with detectable caffeine in umbilical blood had apnea later ( $66.3 \pm 4.14$  hours) than those with undetectable levels ( $54.2 \pm 6.26$  hours).

**Conclusion:** The detected levels of caffeine in umbilical cord blood did not decrease the occurrence of apnea of prematurity. We suggest that further studies on administration of high dose of caffeine to mothers prior to a preterm delivery as a preventive measure for apnea of prematurity deserve to be conducted.

**Keywords:** prematurity, apnea of prematurity, caffeine, low birth weight infant, umbilical cord blood

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<b>%</b>	Percentual
<b>±</b>	Mais ou menos
<b>&lt;</b>	Menor
<b>≥</b>	Maior ou igual
<b>µg/ml</b>	Micrograma por mililitro
<b>µl</b>	Microlitro
<b>AIG</b>	Adequado para a idade gestacional
<b>DMH</b>	Doença da membrana hialina
<b>EUA</b>	Estados Unidos da América
<b>FDA</b>	<i>Food and Drug Administration</i>
<b>g</b>	Gramma
<b>GIG</b>	Grande para a idade gestacional
<b>Hb</b>	Hemoglobina
<b>HCPA</b>	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
<b>HPIV</b>	Hemorragia peri-intraventricular
<b>HPLC</b>	Cromatografia líquida de alta pressão
<b>IG</b>	Idade gestacional
<b>LPV</b>	Leucomalácia periventricular
<b>MDI</b>	Índice de desenvolvimento mental
<b>mg/kg</b>	Miligramma por quilograma
<b>mg/L</b>	Miligramma por litro
<b>mg/ml</b>	Miligramma por mililitro
<b>ml/min</b>	Mililitro por minuto
<b>mm</b>	Milímetro
<b>nm</b>	Nanometro
<b>°C</b>	Graus centígrado
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxigênio
<b>PaCO<sub>2</sub></b>	Pressão parcial de gás carbônico
<b>PCA</b>	Persistência do canal arterial
<b>PDI</b>	Índice de desenvolvimento psicomotor
<b>PIG</b>	Pequeno a para idade gestacional
<b>PN</b>	Peso de nascimento
<b>REM</b>	<i>Rapid eye moviment</i>
<b>RN</b>	Recém-nascido
<b>rpm</b>	Rotações por minuto
<b>RR</b>	Risco relativo
<b>SCLC-10 A</b>	<i>Sistem controler liquid chromatographic mod 10 A</i>
<b>USC</b>	Ultra-sonografia cerebral
<b>UTI</b>	Unidade de terapia intensiva
<b>VM</b>	Ventilação mecânica

• Algumas siglas foram mantidas na sua versão original, em inglês, por serem assim mundialmente conhecidas.

## SUMÁRIO

### RESUMO

### ABSTRACT

### LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	15
2.1 CONCEITO DA APNEIA DA PREMATURIDADE.....	15
2.1.1 Classificação da apneia.....	15
2.2 INCIDÊNCIA DA APNEIA.....	16
2.3 MECANISMOS DE CONTROLE DA RESPIRAÇÃO.....	16
2.4 FATORES DE RISCO PARA A APNEIA.....	19
2.5 TRATAMENTO DA APNEIA.....	20
2.6 USO DA CAFEÍNA EM RECÉM-NASCIDO.....	21
2.7 SEGURANÇA NO USO NEONATAL DA CAFEÍNA.....	24
2.8 FONTES PARA OBTENÇÃO DE CAFEÍNA.....	26
2.9 O CONSUMO DE CAFEÍNA.....	26
2.10 O CONSUMO DA CAFEÍNA NA GESTAÇÃO.....	27
2.11 METABOLISMO DA CAFEÍNA.....	29
2.12 REPERCUSSÕES DO USO DE CAFEÍNA NA GESTAÇÃO NO RECÉM- NASCIDO.....	30
<b>3 JUSTIFICATIVA</b> .....	35
<b>4 OBJETIVOS</b> .....	37
4.1 OBJETIVO GERAL.....	37
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	37
<b>5 HIPÓTESE</b> .....	39
<b>6 METODOLOGIA</b> .....	41
6.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	41
6.2 POPULAÇÃO.....	41
6.2.1 População em estudo.....	41
6.2.2 População da pesquisa.....	41

6.3 AMOSTRA E AMOSTRAGEM .....	42
6.3.1 Critérios de inclusão .....	42
6.3.2 Critérios de exclusão .....	42
6.4 VARIÁVEIS EM ESTUDO .....	43
6.5 VARIÁVEIS CONTROLADAS .....	43
6.6 LOGÍSTICA .....	45
6.7 MÉTODO BIOQUÍMICO EMPREGADO PARA A DETERMINAÇÃO DA CAFEÍNA .....	46
6.7.1 Sistema analítico .....	46
6.7.2 Padronização .....	47
6.7.3 Amostra .....	47
6.8 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA .....	47
6.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	48
6.10 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS .....	48
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>51</b>
<b>8 Artigo em Português: NÍVEL SÉRICO DE CAFEÍNA NO CORDÃO UMBILICAL E APNEIA DA PREMATURIDADE .....</b>	<b>62</b>
<b>9 Artigo em Inglês: SERUM LEVELS OF CAFFEINE IN UMBILICAL CORD AND APNEA OF PREMATURITY .....</b>	<b>78</b>
<b>10 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>94</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>95</b>

# **1 INTRODUÇÃO**

---

## 1 INTRODUÇÃO

Nos RNs pré-termos, os mecanismos de controle da respiração ainda não estão completamente desenvolvidos, o que os torna suscetíveis à respiração periódica e à apneia da prematuridade (ENGOREN, 2009).

A apneia é o distúrbio respiratório mais frequente do período neonatal. Nos últimos anos, o uso do surfactante artificial, a incorporação de novas tecnologias e o progresso nos cuidados neonatais, aumentaram consideravelmente a sobrevivência dos RNs pré-termos e, como consequência, a população de risco para apneia (LOPES, 2001). No entanto, apesar dos avanços registrados na área de conhecimento relacionada ao controle da respiração, os mecanismos exatos da apneia em pré-termos ainda não foram claramente identificados (ABU-SHAWEESH, MARTIN, 2008).

Quando as apneias tornam-se frequentes e prolongadas, o tratamento deve ser iniciado (LOPES, 2001). Dentre as opções terapêuticas, destacam-se as abordagens farmacológicas, sendo a cafeína amplamente utilizada no tratamento da apneia da prematuridade (CARVALHO-LOPES, ANDRADE, 2005).

Tem-se indagado o papel do consumo materno de cafeína e a ocorrência de apneias nos pré-termos. Como a cafeína é uma substância que atravessa a barreira transplacentária (DE SOUZA, SCHIERI, 2005; BOYLAN et al., 2008; GROSSO et al., 2008), ela poderia estimular o centro respiratório do feto intra-útero.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

---

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 CONCEITO DA APNEIA DA PREMATURIDADE

A apneia em pré-termos é definida como pausa da respiração por 20 segundos ou mais, ou pausa de menor duração, se acompanhada de cianose, hipotensão ou bradicardia (POBLANO et al., 2006). A incidência de apneia idiopática da prematuridade é rara no primeiro dia de vida, ocorrendo geralmente entre o 2<sup>o</sup> e o 7<sup>o</sup> dia de vida (BERHMAN et al., 2004; CLOHERTY et al., 2004; KOPELMAN et al., 2004).

#### 2.1.1 Classificação da apneia

A apneia pode ser classificada em três categorias: apneia central, apneia obstrutiva e apneia mista (LEMKE et al., 1998).

**Apneia central:** é caracterizada pela cessação total de movimentos respiratórios e consequentemente de fluxo de ar nas vias aéreas superiores.

**Apneia obstrutiva:** é definida pela cessação de fluxo de ar nas vias aéreas superiores na vigência de movimentos respiratórios ativos.

**Apneia mista:** ocorre um episódio de apneia central seguido por episódio obstrutivo (movimentos respiratórios sem fluxo de ar nas vias aéreas) ou ocorre um episódio obstrutivo seguido por uma apneia central (LOPES, 2001).



## 2.2 INCIDÊNCIA DA APNEIA

A incidência de apneia é inversamente proporcional à IG (JULIEN et al., 2008). Em RN com IG entre 34 e 35 semanas, a incidência encontrada na literatura é de 7%, elevando-se para 14% nas idades gestacionais de 32 e 33 semanas, 54% de 30 e 31 semanas, 75% de 28 e 29 semanas e 78% naqueles com 26 e 27 semanas de IG (KOPELMAN et al., 2004). Em pré-terms com PN menor que 1.000 g, é um evento quase universal (FINER et al., 2006). Os episódios de apneia persistem por períodos variados, mas usualmente cessam por volta de 37 semanas de IG corrigida. No entanto, nos RNs com menos de 28 semanas de IG, estes episódios poderão persistir mais do que o período de termo gestacional (CLOHERTY et al., 2004).

## 2.3 MECANISMOS DE CONTROLE DA RESPIRAÇÃO

Há vários mecanismos envolvidos no controle da respiração dos RNs. Os fisiologistas costumam definir a respiração do RN como uma experiência sensório-motora extremamente dependente da quantidade e qualidade dos estímulos sensoriais aferentes. Esse conceito é substanciado pelos seguintes fatos: simples alterações de temperatura ambiente (hipotermia ou hipertermia) são, às vezes, suficientes para produzir apneia; estímulos tácteis ou sensoriais são capazes de reverter quadros de apneia; a apneia é muitas vezes o sinal mais comum na presença de infecção, anemia ou distúrbios metabólicos (LOPES, 2001).

O sistema vagal participa do controle da respiração, transmitindo informações para o centro respiratório sobre o volume pulmonar e suas variações. Os receptores de estiramento pulmonar e os receptores de adaptação rápida, localizados nos brônquios e bronquíolos, são responsáveis pelos reflexos de insuflação e deflação de Hering-Breuer, respectivamente, e,

portanto, pela determinação dos tempos inspiratórios e expiratórios (CLOHERTY et al., 2004; KOPELMAN et al., 2004).

Os receptores de estiramento pulmonar, localizados na musculatura lisa das vias aéreas, são estimulados com o aumento do volume pulmonar, inibindo a inspiração. A intensidade desse reflexo aumenta com a IG, sendo máxima entre 36 e 38 semanas de IG, quando volta a declinar. A atividade diminuída deste reflexo no pré-termo decorre da menor eficiência na transmissão dos impulsos nervosos. Seu decréscimo ao termo é justificado pela maior importância de outros reflexos da caixa torácica nessa fase (CLOHERTY et al., 2004; KOPELMAN et al., 2004).

A imaturidade do sistema nervoso do RN, principalmente do pré-termo, caracterizada pelo menor número de sinapses entre os neurônios, arborização dendrítica escassa e mielinização incompleta, dificulta a despolarização dos neurônios, retardando a propagação do estímulo nervoso. Com a evolução da gestação, ocorre a diminuição do tempo de condução nervosa, fato que coincide com a queda do número de episódios de apneia (CLOHERTY et al., 2004; KOPELMAN et al., 2004).

Um exemplo da imaturidade é a resposta do potencial evocado, que está diminuída em RN com apneia quando comparada com controles sem apneia, indicando um atraso no tempo de condução do tronco cerebral. Esse atraso, no entanto, melhora após a administração de aminofilina, significando talvez uma imaturidade mais funcional do que anatômica (ABU-SHAWEESH, MARTIN, 2008).

Os astrócitos têm um importante papel na transmissão neuronal. Astrócitos são capazes de liberar transmissores químicos como adenosina, D-serina e glutamato que têm papel na sincronização da atividade neuronal e modulação da transmissão sináptica. O papel dos astrócitos na modulação da respiração é sugerido pela aplicação de inibidores da

glutamase reversa nos mesmos, os quais diminuíram a frequência respiratória em animais (ABU-SHAWEESH, MARTIN, 2008).

Os receptores de ação rápidos, também localizados nas vias aéreas, são estimulados pela contração do volume pulmonar, interrompendo a expiração e iniciando um novo ciclo respiratório. A imaturidade desses receptores também contribui para o desencadeamento da apneia da prematuridade. Os receptores irritativos ou expiratórios, localizados entre as células epiteliais das vias aéreas, são estimulados por agentes mecânicos e químicos, provocando no neonato a apneia. Os receptores justa-pulmonares são localizados nas paredes alveolares, junto aos capilares, sendo estimulados por insuflação, edema ou processo inflamatório pulmonares, desencadeando respiração superficial e apneia, bradicardia e laringoespasma. Os receptores fusiformes são localizados entre as fibras musculares dos músculos intercostais e, em menor número, no diafragma, regulando o tônus desses músculos e a força contrátil. Tais receptores estão ligados ao neurônio motor através da alça aferente, a alça gama. No sono *rapid eye movement* (REM), tipo de sono predominante do RNs, observa-se inibição dessa alça com diminuição do tônus dos músculos intercostais, deixando o neonato em desvantagem para enfrentar o trabalho respiratório. Em situações de distorção da caixa torácica, esses receptores são estimulados e desencadeiam o reflexo inibitório frênico-costal, cuja ação tem importância na respiração do RN, o que o torna suscetível a episódios de apneia (CLOHERTY et al., 2004; KOPELMAN et al., 2004).

Quanto à patência das vias aéreas, o neonato apresenta tendências ao colapso das vias aéreas superiores na inspiração, principalmente no nível da laringe, devido ao seu pequeno diâmetro, e da faringe, por se tratar de um tubo muscular sem suporte tecidual rígido (CLOHERTY et al., 2004; KOPELMAN et al., 2004).

As características da caixa torácica do pré-termo tornam a mecânica ventilatória pouco eficiente. O formato circular dos arcos costais e sua inserção perpendicular à coluna vertebral

determinam menor aumento no volume pulmonar durante a inspiração. Seu maior conteúdo cartilágneo aumenta a complacência da caixa torácica, tornando-a mais suscetível ao colapso na inspiração e aumentando o trabalho respiratório (CLOHERTY et al., 2004; KOPELMAN et al., 2004).

O pré-termo apresenta resposta bifásica à hipóxia caracterizada por aumento na ventilação-minuto nos dois minutos iniciais, seguida de decréscimo do volume-minuto, uma vez que a hiperventilação não é mantida. A diminuição da frequência respiratória pode resultar em apneia. Uma das possíveis causas para a depressão pós-hipóxia é a liberação de adenosina. Essa base nitrogenada é produzida com a quebra do adenosina tri-fosfato (ATP), durante a hipóxia (LOPES, 2001).

Além disso, sabe-se que uma concentração basal de  $\text{CO}_2$  é essencial para que a respiração ocorra. O nível abaixo do qual a respiração cessa é conhecido como limiar obtido pelo  $\text{CO}_2$ . Sabe-se que os RNs respiram muito próximo do seu limiar. A proximidade entre o  $\text{PCO}_2$  eupneico e o limiar para o  $\text{PCO}_2$  que desencadeia apneia confere grande vulnerabilidade ao sistema do controle respiratório do RN, já que uma oscilação mínima na respiração pode trazer o  $\text{PCO}_2$  eupneico abaixo do seu limiar mínimo, causando a apneia (KHAN et al., 2005).

No pré-termo, há ainda um desequilíbrio entre os neuromoduladores que participam do controle respiratório, ocorrendo um predomínio dos mediadores inibitórios que possuem efeito depressor respiratório (CLOHERTY et al., 2004; KOPELMAN et al., 2004).

#### 2.4 FATORES DE RISCO PARA A APNEIA

Muitos fatores estão relacionados à ocorrência de apneia, dentre os quais citamos: PCA, anemia, hipoglicemia, hipocalcemia, sepse, instabilidade térmica, patologias intracranianas, refluxo gastro-esofágico e drogas depressoras do sistema nervoso central. O

papel do refluxo gastro-esofágico ainda é controverso na literatura, com alguns trabalhos negando a associação do refluxo gastro-esofágico com a presença de apneia (PETER et al., 2002, DiFIORE et al., 2005). Além disso, mais recentemente, consanguinidade e icterícia também têm sido relacionadas com apneia da prematuridade (TAMIM et al., 2003; MESNER et al., 2008).

Foi realizada uma revisão dos fatores de risco para apneia em pré-termos com PN inferior a 1.500 g (LOPES, 2001). Dentre os 63 pacientes sobreviventes no período de um ano, 32 apresentaram apneia com necessidade de tratamento e 10 apresentaram apneias graves e recorrentes. O peso médio dos pacientes com apneia foi de 1.124 g e daqueles sem apneia foi 1.270 g. A incidência de apneia foi inversamente proporcional à IG e ao peso. O risco relativo (RR) para apneia não foi diferente quanto ao tipo de parto, sexo, presença de sepse, hemorragia intracraniana e displasia broncopulmonar. Entretanto verificou-se que o RR para ocorrência de apneia foi 1,73 (1,13-2,66) naqueles RNs com peso apropriado para a IG, quando comparados aos pequenos para IG; e 2,58 (1,16-5,74) nos RNs com DMH.

Poblano et al. (2006), verificou que a média de IG dos pacientes que apresentaram apneia foi 32,8 semanas *versus* 33,8 semanas nos pacientes em apneia. Também o peso ao nascer foi significativamente maior nos pacientes sem apneia.

## 2.5 TRATAMENTO DA APNEIA

Quando as apneias tornam-se frequentes e prolongadas, o tratamento deve ser iniciado. O tratamento consiste no uso de metilxantinas, CPAP e VM (BHATIA, 2000; REGO, MARTINEZ, 2000; AGGARWAL et al., 2001; UPADHYAY, DEORARI, 2004). Dentre as opções terapêuticas, destaca-se a abordagem farmacológica com emprego da cafeína.

## 2.6 USO DA CAFEÍNA EM RECÉM-NASCIDO

Desde o relato inicial de decréscimo na frequência de episódios de apneia em neonatos tratados com teofilina por via retal em 1973, numerosos estudos confirmaram a utilidade das xantinas metiladas no tratamento de apneia neonatal. A cafeína e a teofilina são agora amplamente utilizadas na apneia neonatal da prematuridade (CARVALHO-LOPES, ANDRADE, 2005), estando entre as drogas mais prescritas em Neonatologia e reduzindo a frequência de apneia e a necessidade de VM (SCHMIDT, 2005).

Vários mecanismos de ação podem explicar a menor frequência de apneia após a administração de metilxantinas (CARVALHO-LOPES, ANDRADE, 2005; ARANDA et al., 1977):

- Estímulo respiratório central: produzem aumento da ventilação, decréscimo na pressão parcial de gás carbônico ( $\text{PaCO}_2$ ) e aumento na maioria dos índices que refletem o controle respiratório neural.
- Bloqueio da adenosina, a qual tem efeito inibitório sobre a respiração.
- Melhora da contração dos músculos respiratórios
- Outros: alteração das taxas metabólicas, do débito cardíaco e da homeostase metabólica, bem como potencialização dos efeitos das catecolaminas.

A adenosina é um produto do ATP que está presente em vários locais do cérebro, inclusive do líquido, e tem atividade depressora da respiração. O envolvimento da adenosina na depressão ventilatória durante a hipóxia é sugerido pela observação de que a hipóxia aumenta a adenosina no líquido intersticial cerebral, assim como no plasma e líquido de estudos com animais. Além disso, a utilização de antagonistas da adenosina reverte a depressão hipóxica em animais anestesiados (ABU-SHAWEESH, 2004). O nível de adenosina circulante diminui imediatamente após o nascimento, assim como o nível de adenosina no cérebro. Essa

diminuição da inibição adenosinérgica pode contribuir para o estabelecimento do padrão respiratório pós-natal (HERLENIUS et al., 2002). O papel da adenosina na apneia da prematuridade é sugerido pela habilidade dos antagonistas da adenosina (derivados das xantinas – teofilina e cafeína) em diminuir a incidência de apneia. Contudo, o mecanismo exato e a localização da ação da adenosina, assim como a interação da adenosina com outros neurotransmissores, ainda é objeto de estudo (ABU-SHAWEESH, 2004). A ingestão de altas doses de cafeína durante a gestação e no período pós-natal imediato pode alterar o desenvolvimento do receptor da adenosina e aumentar a incidência de apneia em ratos (HERLENIUS et al., 2002).

Ensaio controlados, comparando teofilina com cafeína, indicam que ambas as drogas são eficazes no manuseio da apneia, porém, com a teofilina, observam-se mais efeitos adversos (PESCE et al., 1998; FREDHOLM et al., 1999). Como a cafeína tem uma meia-vida plasmática mais prolongada, as doses são menos frequentes e a necessidade de monitorização do tratamento é menos crucial (LEON et al., 2007; NATARAJAN et al., 2007). Além disso, o início de ação da cafeína é mais rápido (KASSIM et al., 2009). Sendo assim, a cafeína tornou-se a droga de escolha para tratamento da apneia da prematuridade (GANNON, 2000; STEER, HENDERSON-SMART, 2000; COMER et al., 2001; HENDERSON-SMART, STEER, 2001).

Em casos de dose excessiva da cafeína, a eliminação prolongada da droga pode resultar na manutenção de altas concentrações plasmáticas por longos períodos. Entretanto, observações prévias sugerem que as concentrações plasmáticas de cafeína até 50 mg/L podem não resultar em nenhum efeito adverso (CARVALHO-LOPES, ANDRADE, 2005). A apneia pode ser causada por obstrução das vias aéreas altas, sem interrupção da atividade muscular respiratória. O reconhecimento desse fato levou a uma reavaliação dos efeitos das xantinas na redução da frequência das apneias, tanto nos lactentes nos quais predominavam as apneias

centrais, quanto naqueles cuja obstrução nas vias aéreas era o principal mecanismo patogênico envolvido. Roberts et al. (1982) descreveram uma significativa redução de todos os tipos de apneia, sugerindo que a teofilina pudesse melhorar a coordenação entre as vias aéreas altas e os músculos respiratórios.

O efeito previamente proposto por Roberts também foi observado nos lactentes pré-termos nos quais a eletroneuromiografia diafragmática e dos músculos laríngeos foi registrada simultaneamente (CARVALHO-LOPES, ANDRADE, 2005).

Dados da *Cochrane Library* referentes à administração de metilxantinas antes da extubação de lactentes pré-termos foram importantes na implementação dessa rotina assistencial (HENDERSON-SMART, STEER, 2000; HENDERSON-SMART et al., 2001; HENDERSON-SMART, DAVIS, 2003). Os autores relacionaram dados provenientes de seis ensaios, num total de 187 lactentes (quatro ensaios com teofilina e dois com cafeína). O dado primariamente aferido foi a impossibilidade de desmame da VM e extubação. Secundariamente, foi avaliada a necessidade de re-intubações para reiniciar a VM ou necessidade de CPAP. Três ensaios encontraram redução significativa na falha de extubações durante a primeira semana após o início do tratamento. Um estudo registrou a eficácia do tratamento reduzindo as falhas na extubação de lactentes com menos de 1.000 g ao nascer e com menos de uma semana de vida. A análise global dos seis ensaios mostrou que o tratamento com metilxantinas resulta na redução das falhas de extubações, com RR de 0,47 (0,32-0,70), protetor para o desfecho apneia.

Em trabalho experimental publicado por Yoder et al. (2005), os autores avaliaram os efeitos cardiopulmonares do uso precoce de cafeína em babuínos pré-termos que haviam recebido também surfactante exógeno. Nesse estudo, o tratamento precoce com cafeína, combinado com a administração de surfactante, esteve associado com melhora da função pulmonar nas primeiras 24 horas de vida.



## 2.7 SEGURANÇA NO USO NEONATAL DA CAFEÍNA

O tratamento adequado das apneias no período neonatal é de fundamental importância, já que é observado maior incidência de HPIV, hidrocefalia, LPV, necessidade de suporte ventilatório por período de tempo mais prolongado e alterações do desenvolvimento neurológico no primeiro ano de vida, quando comparados com pré-termos sem apneia (CARVALHO-LOPES, ANDRADE, 2005). Janvier et al. (2004) realizaram o seguimento por três anos de pré-termos que apresentaram apneias no período neonatal, encontrando pior desenvolvimento neuropsicomotor nas crianças que tiveram apneias no período neonatal do que seus controles, sem apneias.

Em estudo multicêntrico (SCHMIDT et al., 2006), a administração de pressão positiva e oxigenioterapia foram descontinuadas uma semana antes naqueles pacientes que utilizaram cafeína, quando comparados com os pacientes que utilizaram placebo. Além disso, o uso de doxapram, corticoide pós-natal e transfusão de concentrado de hemácias (CHAD) foram menores nos pacientes que receberam cafeína. A cafeína reduziu a incidência de displasia broncopulmonar e a necessidade de cirurgia para fechamento do canal arterial. Durante as três primeiras semanas de acompanhamento, os pacientes que receberam cafeína tiveram menos ganho de peso do que aqueles do grupo placebo, mas essa diferença no ganho de peso não se manteve após quatro a seis semanas no seguimento. Essa redução do ganho de peso inicial no grupo que recebeu cafeína pode estar relacionada com o aumento do consumo de oxigênio (O<sub>2</sub>) e taxa metabólica aumentada nesses pacientes (BAUER et al., 2001).

Em estudo multicêntrico (SCHMIDT et al., 2007), o uso de cafeína melhorou a taxa de sobrevivência sem comprometimento do neurodesenvolvimento avaliado nas idades corrigidas de 18 a 21 meses, havendo uma redução significativa da incidência de paralisia cerebral e de retinopatia da prematuridade grave. Ainda, observaram-se melhores índices de

desenvolvimento mental (MDI) e psicomotor (PDI) avaliados pela escala Bayley (BENITZ, 2008).

A cafeína pode encurtar o tempo de coagulação sanguínea, como resultado do aumento dos fatores de coagulação, como o fator V, protrombina e fibrinogênio. Esse aspecto pode ser considerado benéfico para o RN, no qual os fatores de coagulação, particularmente os fatores dependentes de vitamina K, são deficientes. Além disso, a cafeína pode estimular a liberação de insulina e de glucagon e aumentar a liberação de catecolaminas, elevar a glicose sanguínea, aumentar a secreção de cortisol e os níveis plasmáticos de ácidos graxos livres. Esses efeitos são críticos para o bem-estar do neonato. O aumento da glicose sanguínea seria benéfico para lactentes com hipoglicemia (CARVALHO-LOPES, ANDRADE, 2005). O uso de cafeína intravenosa aumenta o débito cardíaco e a pressão arterial, podendo ter efeito positivo em pré-termos hipotensos (SOLOVEYCHIK et al., 2009). Não há evidências de que a cafeína em dose de manutenção altere a organização do sono em pré-termos (CURZIDASCALOVA et al., 2002).

Além dos dados em humanos, há indícios de modelos experimentais de que o uso de cafeína no período neonatal poderia ter efeito protetor para a ocorrência de lesão da substância branca periventricular, hipótese sustentada pelo fato de a adenosina ser um dos possíveis mediadores humorais da lesão hipóxica, e a cafeína agir como um antagonista dos receptores da adenosina (BACK et al., 2006).

Apesar de os estudos em humanos demonstrarem segurança no uso da cafeína, alguns ensaios em animais demonstraram que o uso dessa substância durante a gestação pode modificar o controle respiratório, aumentando a incidência de apneia no animal adulto e alterar a expressão dos receptores de adenosina no tronco cerebral em ratos RNs (MONTANDON et al., 2006). O emprego de cafeína em ratos nos primeiros dias de vida altera a distribuição, densidade e sensibilidade dos receptores de adenosina em várias regiões

do sistema nervoso central e esses efeitos persistem até a idade adulta (MONTANDON et al., 2008). Além disso, o uso neonatal de cafeína aumentaria a resposta ventilatória à hipercapnia e o índice de apneias em animais adultos (MONTANDON et al., 2006).

## 2.8 FONTES PARA OBTENÇÃO DE CAFEÍNA

As maiores fontes de cafeína são café, chá, chocolate e refrigerantes do tipo cola. O *Food and Drug Administration* (FDA), em 1980, relatou que cerca de mil drogas prescritas e duas mil drogas não prescritas contêm cafeína, e isso pode ser uma importante fonte para uma minoria de pessoas, particularmente para aquelas que não consomem alimentos e/ou bebidas cafeinadas. A cafeína pode ser encontrada em comprimidos para resfriados e alergias, analgésicos, moderadores do apetite e estimulantes (DE SOUZA, SCHIERI, 2005).

## 2.9 O CONSUMO DE CAFEÍNA

A cafeína é, talvez, a droga mais frequentemente ingerida no mundo, sendo consumida por pessoas de todas as faixas etárias. O seu consumo é tão amplo que cerca de 95% das mulheres grávidas ingerem alguma cafeína, seja através da alimentação, ou seja através de medicação (DE SOUZA, SCHIERI, 2005).

O consumo diário *per capita* de cafeína, considerando todas as fontes, é cerca de 3-7 mg/kg/dia, aproximadamente 200 mg/dia na população geral. Entretanto, grávidas parecem consumir menos cafeína do que outros adultos, com uma redução de 20% a 22% no consumo, que decorre principalmente da redução do uso do café. Essa redução pode estar relacionada a uma temporária perda do paladar para o café durante a gravidez e, também, possivelmente, em resposta a muitos relatos publicados sobre os efeitos adversos reprodutivos

(DE SOUZA, SCHIERI, 2005). Em estudo publicado em 2008 no Reino Unido, a média do consumo de cafeína entre mulheres em idade reprodutiva foi de 174 mg/dia, sendo a média entre fumantes de 378 mg/dia e entre não-fumantes 125 mg/dia. Somente 18% da população excedeu o consumo de 300 mg/dia (ABDULA, DERBYSHIRE, 2008).

O consumo em doses moderadas (50 mg a 300 mg – 1 a 3 xícaras de café) leva à estimulação do sistema nervoso central, causando sensação de bem-estar, energia e maior habilidade de concentração. Em doses maiores (300 mg a 800 mg), causa efeitos negativos como ansiedade, nervosismo e insônia, condição algumas vezes chamada de “cafeinismo” (BJÖRKLUN et al., 2008). Sintomas de abstinência como ansiedade, cefaléia e mialgia podem ocorrer, se o consumo diário é abruptamente interrompido (KUCZKOWSKI, 2009). Há relato na literatura (ERGENEKON et al., 2001) de exposição acidental a altas doses de cafeína (300 mg/kg) em pré-termo de 28 semanas de IG. O paciente apresentou agitação, irritabilidade, taquicardia, taquipneia, alteração da diurese e dos eletrólitos, hiperglicemia e acidose metabólica. Os efeitos da intoxicação duraram 96 horas, mas se resolveram completamente com tratamento de suporte.

## 2.10 O CONSUMO DA CAFEÍNA NA GESTAÇÃO

O interesse pelo estudo do uso da cafeína na gestação começou na década de setenta, quando estudos em animais indicaram que a cafeína estaria relacionada à diminuição do crescimento intra-uterino fetal, redução do peso ao nascer, reabsorção fetal e teratogênese (DE SOUZA, SCHIERI, 2005). Estudos mais recentes mostram que o consumo de altas quantidades de cafeína estaria associado à risco aumentado de aborto (WENG et al., 2008), criptorquidia (MONGRAW-CHAFFIN et al., 2008), crescimento intra-uterino restrito, infertilidade, doenças cardiovasculares, hipertensão arterial, osteoporose e câncer (ABDULA,

DERBYSHIRE, 2008). Dados controversos são obtidos de estudos que colocam em dúvida o papel da cafeína em desfechos reprodutivos deletérios como prematuridade e baixo peso ao nascer (PACHECO et al., 2007) e aborto (SAVITZ et al., 2008).

A exposição precoce a drogas estimulantes (como é o caso da cafeína), principalmente no período fetal, poderia levar a um fenômeno chamado *imprinting* neuronal, no qual os efeitos da droga não teriam manifestação precoce, mas sim mais tardiamente. Nesse caso o uso de cafeína poderia aumentar a reação a outras drogas psicoativas no futuro (cocaína, por exemplo) (BJÖRKLUND et al., 2008). Estudos em animais expostos à cafeína na vida intra-uterina também demonstram efeitos adversos na vida adulta, como diminuição da função cardíaca em 38% e aumento da gordura corporal em 20% em ratos machos expostos à droga (WENDLER et al., 2008)

Alguns autores têm estudado a relação entre cafeína e seus possíveis efeitos durante a gravidez, sobretudo nos Estados Unidos da América (EUA) onde o FDA, em 1980, com base nos achados em estudos em animais, sugeriu que as mulheres grávidas evitassem ou diminuíssem o consumo de alimentos e/ou bebidas contendo cafeína. Porém, muitos dos efeitos da cafeína em animais ocorreram com uso de doses que não estão dentro do limite do consumo humano (DE SOUZA, SCHIERI, 2005). Mesmo assim, a *Food Standards Agency* (Reino Unido) publicou em 2001 um *guideline* advertindo que o consumo de cafeína maior que 300 mg/dia estaria relacionado a complicações (ABDULA, DERBYSHIRE, 2008). Mais recentemente, a FDA aconselhou as mulheres grávidas a evitarem, ou, pelo menos, manterem, durante a gravidez, o consumo abaixo de 200 mg/dia (PACHECO et al., 2007).

## 2.11 METABOLISMO DA CAFEÍNA

A cafeína (1, 3,7 – trimetilxantina) é rapidamente absorvida no trato gastrointestinal e facilmente atravessa a barreira placentária, passando quantidades substanciais para o líquido amniótico, sangue do cordão umbilical, plasma e urina dos neonatos. O metabolismo hepático é o mecanismo dominante da eliminação (95%). A biotransformação da cafeína é complexa e, pelo menos 17 metabólitos urinários, podem ser detectados seguindo o consumo de cafeína. A cafeína é metabolizada em paraxantina (1,7 – dimetilxantina), teofilina (1,3 – dimetilxantina) e teobrina (3,7 – dimetilxantina). Em humanos, o principal metabólito da cafeína é a paraxantina (72%-80%) (DE SOUZA, SCHIERI, 2005; GROSSO et al., 2006).

O *clearance* da cafeína é alterado durante a gravidez, sobretudo no segundo e terceiro trimestres, quando a meia-vida da cafeína é cerca de sete e dez/onze horas, respectivamente, sendo que, nas mulheres não grávidas, a meia-vida é de duas horas e meia a quatro horas e meia (DE SOUZA, SCHIERI, 2005).

Alguns mecanismos têm sido postulados para explicar tal fenômeno. A diminuição do *clearance* da cafeína durante a gravidez coincide com as mudanças dramáticas na concentração dos hormônios esteroides. Níveis aumentados de estrogênio e progesterona têm efeitos antagônicos no metabolismo da cafeína, pois são hormônios metabolizados por enzimas hepáticas que também estão envolvidas no metabolismo das metilxantinas. Esses hormônios levariam a um progressivo decréscimo no citocromo P-450 (CYP1A2), que é considerado, primariamente, o responsável pela desmetilação da cafeína em adultos. Devido a isso, verifica-se um aumento da concentração de cafeína (DE SOUZA, SCHIERI, 2005). Ocorre também alteração do metabolismo da cafeína em fumantes e nos casos em que há uso de contraceptivo oral e polimorfismos do CYP1A2 (enzima com mais de 40 variações descritas) (BOYLAN et al., 2008).

Em fumantes, o consumo aumentado de cafeína pode estar relacionado ao aumento da velocidade de *clearence* da cafeína nessa população, onde um maior aporte seria necessário para obter a mesma resposta psicoativa (ABDULA, DERBYSHIRE, 2008). O tabagismo pode dobrar a taxa metabólica da cafeína pelo estímulo dos efeitos dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, que aumentam a atividade enzimática do fígado (GROSSO et al., 2008).

Devido à incapacidade do feto e da placenta de metabolizar a cafeína, o feto é exposto à cafeína e seus metabólitos por um período prolongado de tempo (GROSSO et al., 2006).

O feto terá as enzimas necessárias para o metabolismo hepático somente oito meses após o parto. Como resposta a essa imaturidade hepática, o neonato tem rotas compensatórias que incluem eliminação renal da cafeína. Oitenta a 90% da cafeína é excretada na urina, ressaltando-se que nos adultos esse percentual é inferior a 2%. A meia-vida da cafeína no neonato é de 50 a 103 horas, e esta diminui para 14 horas com 3-5 meses e 3 horas em 5-6 meses (GROSSO, BRACKEN, 2005). Somam-se também às diferenças na maturidade das funções hepática e renal, as variações genéticas da enzima hepática envolvida na biotransformação da cafeína, o que pode contribuir para a variação na resposta à cafeína (STEVENSON, 2007). Também ocorrem variações entre os sexos, com maior taxa metabólica em pré-termos femininos (AL-ALAIYAN et al., 2001).

## 2.12 REPERCUSSÕES DO USO DE CAFEÍNA NA GESTAÇÃO NO RECÉM-NASCIDO

Diversos estudos foram realizados para quantificar a presença de cafeína no organismo materno durante a gestação. Boylan et al. (2008) dosaram a concentração de cafeína e paraxantina na saliva em gestantes do Reino Unido (os níveis de cafeína no plasma e na saliva são fortemente correlacionados). A média de concentração da cafeína foi de 0,45 µg/ml. Estudo semelhante realizado nos EUA demonstrou que, entre gestantes no terceiro trimestre

de gestação e com relato de baixo consumo de cafeína, a média do nível sérico dessa substância no sangue de cordão umbilical foi de 0,48 µg/ml (variação entre 0-10,49 µg/ml). Mulheres que referiram consumo  $\geq 300$  mg/dia de cafeína no terceiro trimestre tiveram RNs com média de nível sérico de cafeína no sangue de cordão umbilical de 2,1 µg/ml. Fumantes tiveram filhos com maiores níveis de paraxantina e menores níveis de cafeína, o que reflete o metabolismo mais rápido da cafeína nessas gestantes (GROSSO et al., 2008).

Khanna e Somani (1984) relatam o caso de um pré-termo cuja mãe ingeria 24 xícaras de café diariamente durante a gestação. O RN apresentou apneia e, não se sabendo da história materna, foi tratado com cafeína. Quando coletado o nível sérico da cafeína no quinto dia de vida, esse foi de 40,3 µg/ml, concluindo-se, nesse caso, que as apneias deveram-se à abstinência de cafeína nos primeiros dias de vida.

McCulloch et al. (1989) dosaram cafeína no sangue de cordão umbilical de 79 pré-termos, sendo que 11 destes (14%) tiveram níveis detectáveis de cafeína, enquanto 68 tiveram níveis indetectáveis. O nível sérico de cafeína variou entre 1,1 µg/ml a 3,7 µg/ml. Dentre os 11, sete foram submetidos à pneumografia e 14 dos que tinham níveis indetectáveis também realizaram o exame antes de duas semanas de vida. Não houve diferença na ocorrência de apneia entre os dois grupos, no entanto a pneumografia foi realizada somente após estabilidade clínica do RN e em pacientes sem necessidade de suporte ventilatório ou oxigenioterapia, excluindo-se assim os pacientes mais graves, fato que pode ter interferido no resultado.

Resultados divergentes foram relatados em estudo publicado por Toubas et al. (1986). Nesse estudo retrospectivo, foi aplicado um questionário para 298 mães de RNs com apneia antes da realização de uma polissonografia de rotina, como parte da avaliação do paciente. O questionário avaliava o consumo de cigarro e cafeína durante e após a gestação. Tanto a cafeína quanto o tabagismo durante a gestação estiveram relacionados à apneia central. No



caso do consumo de cafeína durante a gestação, mesmo após ajuste para a IG, idade na avaliação e PN, o aumento de 1 mg/dia esteve associado ao aumento de uma apneia/hora. No caso de apneia obstrutiva, não ocorreu associação entre apneia e consumo de cafeína ou tabagismo materno. A explicação dos autores para o aumento das apneias centrais com o consumo de cafeína estaria relacionado ao aumento do número de receptores de adenosina demonstrado em alguns estudos com animais. A adenosina é produzida durante a hipóxia severa e seus análogos induzem depressão respiratória nas cobaias. É possível que RNs expostos cronicamente a cafeína intra-útero poderiam ser mais sensíveis aos episódios de hipóxia.

Muitos experimentos com animais foram realizados a partir da década de 80 para melhor investigar a relação do uso de cafeína na gestação e as repercussões respiratórias nos RNs. Em 2003, foi demonstrado por Bodineau et al. (2003) que ratos RNs cujas ratas receberam cafeína durante a gestação tiveram seu padrão respiratório alterado. Sobre condições de normóxia, os animais tratados com cafeína apresentaram maior frequência respiratória do que o grupo controle, mas não foram encontrados episódios de apneia nesses ratos (HERLENIUS et al., 2002; BODINEAU et al., 2003). O estudo realizado por Saadani-Makki et al. (2004) também encontrou aumento da frequência respiratória em ratos expostos à cafeína intra-útero. Esse dado coincide com a taquipneia encontrada em RNs de gestantes que tiveram um importante consumo de cafeína na gestação (MCGOWAN et al., 1988). Também foi demonstrado aumento da depressão respiratória após o insulto hipóxico, claramente enfatizado pela exposição à cafeína intra-útero (BODINEAU et al., 2003).

Um achado interessante é que o aumento da frequência respiratória e a maior depressão respiratória após o episódio de hipóxia encontrados nos ratos expostos à cafeína não são observados em ratos amamentados por ratas que receberam cafeína, ou seja, por ratos

que recebem cafeína no leite. Esse fato reforça a hipótese de que essas alterações são dependentes de uma situação de janela terapêutica (BODINEAU et al., 2006).

Em estudo recente, avaliando a ação da cafeína intra-útero, não foi encontrada alteração da frequência respiratória basal nos ratos expostos, mas o uso de cafeína durante a gestação atenuou o aumento inicial e a diminuição posterior da ventilação após a ocorrência de hipóxia alveolar moderada (PICARD et al., 2008). A hipóxia alveolar moderada é uma consequência comum das apneias e bradicardia em neonatos, especialmente em pré-termos. Quando sustentada, a hipóxia evoca uma resposta bifásica que consiste em uma hiperventilação inicial regulada pela ativação de quimiorreceptores periféricos sensível ao O<sub>2</sub>, seguida pela depressão respiratória regulada por mecanismos centrais (dependente de modulação adenosinérgica) (PICARD et al., 2008).

A apneia da prematuridade é, portanto, evento frequente, possivelmente relacionado com morbidades no seguimento do pré-termo. O conhecimento do exato papel da cafeína na qualidade de estimulante do sistema nervoso central do RN pré-termo e a influência dos níveis de cafeína existentes no organismo materno na ocorrência de apneias ainda necessitam de maiores esclarecimentos, uma vez que os dados da revisão da literatura são escassos e conflitantes.

### **3 JUSTIFICATIVA**

---

### **3 JUSTIFICATIVA**

A cafeína é a droga de escolha no tratamento da apneia da prematuridade, por ser uma substância com menos efeitos colaterais e com menor necessidade de monitorização do nível sérico quando comparada com a teofilina.

Além disso, a cafeína é, talvez, a droga lícita mais frequentemente ingerida no mundo, sendo consumida por pessoas em todas as idades, inclusive gestantes.

Como a cafeína é uma substância que atravessa a barreira transplacentária, poderia estimular o centro respiratório do feto intra-útero.

Na literatura atual, o papel do uso de cafeína na gestação e a ocorrência de apneia da prematuridade são controversos. O fato de não haver estudos recentes em humanos que investiguem a relação entre a ingestão materna de cafeína e a ocorrência de apneia em pré-termos nos primeiros dias de vida constituiu a motivação para o desenvolvimento deste trabalho.

## **4 OBJETIVOS**

---

## **4 OBJETIVOS**

### **4.1 OBJETIVO GERAL**

Analisar a influência da ingestão materna de cafeína e o desenvolvimento de apneia da prematuridade.

### **4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar os níveis plasmáticos de cafeína no sangue de cordão umbilical em RNs pré-terms.
- Estabelecer a existência de associação entre as concentrações plasmáticas de cafeína no sangue de cordão umbilical e incidência de apneias nos primeiros quatro dias de vida destes RNs.

## **5 HIPÓTESE**

---

## **5 HIPÓTESE**

A presença de apneias da prematuridade pode estar relacionada com os níveis maternos de cafeína, significando, possivelmente, o consumo materno de cafeína um fator protetor para apneia da prematuridade, uma vez que tal fármaco é utilizado no tratamento dessa morbidade.



## **6 METODOLOGIA**

---

## **6 METODOLOGIA**

### **6.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO**

Trata-se de um estudo de coorte prospectivo e de caráter observacional. Os fatores em estudo são os níveis maternos de cafeína, medidos através do sangue de cordão umbilical. O desfecho clínico é a presença de apneia em pré-termos, sendo seu diagnóstico realizado através de exame clínico e monitorização em unidade de terapia intensiva (UTI) neonatal.

### **6.2 POPULAÇÃO**

#### **6.2.1 População em estudo**

A população em estudo é constituída de todos os pré-termos nascidos no Centro Obstétrico do HCPA e internados no Serviço de Neonatologia desse hospital.

#### **6.2.2 População da pesquisa**

Os pacientes efetivamente estudados são os RNs pré-termos com PN entre 1.000 g e 2.000 g e IG menor que 37 semanas, nascidos e internados na UTI neonatal do HCPA.

## 6.3 AMOSTRA E AMOSTRAGEM

### 6.3.1 Critérios de inclusão

Foram considerados como elegíveis para a pesquisa todos os RNs pré-termos com PN entre 1.000 g e 2.000 g e IG menor que 37 semanas, nascidos no centro obstétrico e internados pela primeira vez na UTI neonatal do HCPA, independente da patologia de base.

### 6.3.2 Critérios de exclusão

Constituem critérios de exclusão:

- RN em VM durante os primeiros quatro dias de vida.
- RN com malformação congênita cerebral.
- Asfixia perinatal (Apgar menor que 7 no 5º minuto de vida).
- HPIV graus 3 e 4 (ecografia cerebral foi realizada em todos os RNs com PN abaixo de 1.500 g para diagnóstico de HPIV. Nos pré-termos com peso acima de 1.500 g, foi realizada ecografia cerebral nos casos com qualquer intercorrência clínica, inclusive apneia).
- Malformação cardíaca maior.
- Uso materno de opioides ou de fármacos que levam à depressão do centro respiratório.
- Uso de teofilina ou exsanguíniotransfusão antes da obtenção do sangue do RN para dosagens de cafeína.
- Apneia isolada sem necessidade de tratamento.

Considerados como perdas se:

- Coagulação da amostra de sangue ou coleta insuficiente de material.
- Ausência de consentimento dos pais ou responsável legal.

#### 6.4 VARIÁVEIS EM ESTUDO

As variáveis em estudo foram obtidas a partir de informações presentes na ficha obstétrica e do RN, preenchidas rotineiramente desde o momento do nascimento, até sua alta hospitalar ou óbito e das dosagens das amostras do sangue de cordão umbilical e sangue periférico coletadas dos RNs estudados.

Foram estudadas as seguintes variáveis:

- **Dosagem sérica da cafeína no sangue de cordão umbilical:** coletado logo após o nascimento.
- **Dosagem sérica da cafeína no sangue periférico:** coletado do RN no quarto dia de vida (tempo da meia-vida da cafeína) ou no momento da apneia.
- **Apneia:** definida como pausa da respiração por mais de 20 segundos ou mais, ou pausa de menor duração se acompanhada de cianose, hipotensão ou bradicardia (POBLANO et al., 2006). O diagnóstico ocorreu através da monitorização do paciente e do quadro clínico.

#### 6.5 VARIÁVEIS CONTROLADAS

Sabemos atualmente que inúmeros fatores tais como PN, IG e presença de sepse podem aumentar a incidência de apneia no período neonatal. No estudo em questão, essas variáveis foram controladas e, na análise dos resultados, foi realizada regressão logística multifatorial.

As variáveis controladas estão listadas a seguir:

### **Quanto ao recém-nascido**

- *Sexo*: dicotomizado, masculino, feminino.
- *IG*: foram incluídos no estudo RNs pré-termos. Consideramos pré-termo aquele RN com IG obstétrica inferior a 37 semanas. Como a coleta do sangue de cordão foi realizada logo após o parto, os métodos empregados na avaliação da IG foram IG obstétrica obtida por ultra-sonografia nas primeiras semanas de vida fetal (presença de saco gestacional) ou, na impossibilidade desse dado, foi considerada a data da última menstruação confirmada pelo exame clínico (CHAMBERLAIN et al., 1991; CLOHERTY et al., 2004).
  - *Peso de nascimento*: aferido em balança eletrônica, em todos os RNs vivos.
  - *Classificação quanto ao peso e IG*: os RNs foram classificados em pequenos para a idade gestacional (PIG), adequados para a idade gestacional (AIG) e grandes para a idade gestacional (GIG), de acordo com a curva de classificação de Alexander et al. (2006). Foram considerados como PIG os RNs abaixo do percentil 10 (LEE et al., 2003; ALEXANDER et al., 2006).
    - *Tipo de parto*: vaginal, vaginal com necessidade de fórceps e cesáreo.
    - *Escore de Apgar* no 5º minuto de vida (CLOHERTY et al., 2004).
    - *Sepse*: foram considerados tanto o diagnóstico clínico quanto laboratorial de sepsis precoce (antes de seis dias de vida) (GERDES, POLIN, 1998; MIURA et al., 1999; GERDES, 2004; VERGANO et al., 2005). Todos os pacientes com diagnóstico de sepsis precoce foram submetidos à punção lombar para diagnóstico de meningite (HEATH et al., 2003).
      - *Diagnósticos adicionais*: anemia ( $Hb < 10$ ), PCA, HPIV, LPV, crise convulsiva, necessidade de VM, DMH.

Quanto à história pré-natal e dados maternos:

- História de hipertensão na gestação ou hipertensão prévia.

## 6.6 LOGÍSTICA

Os RNs incluídos na população da pesquisa, nascidos no Centro Obstétrico do HCPA no período do estudo, com PN entre 1.000 g e 2.000 g e IG inferior a 37 semanas foram submetidos à coleta do sangue venoso do cordão umbilical logo após o parto (procedimento sem repercussão para o RN). Antes da coleta, foi solicitado autorização dos pais, conforme o termo de consentimento informado (Anexo I).

Esses pré-termos foram acompanhados na UTI neonatal, procedendo-se exclusões, quando necessárias e nova coleta de sangue venoso periférico foi realizada no momento da primeira apneia (antes do tratamento medicamentoso com metilxantina). No caso de não ocorrer apneia, foi coletada nova amostra de sangue venoso periférico no quarto dia de vida (tempo de meia-vida da cafeína). As amostras eram congeladas em freezer  $-80^{\circ}$  C para posterior determinação do nível sérico de cafeína. Os pacientes estudados não foram submetidos à punção para coleta de amostra de sangue exclusivamente para a pesquisa, tendo sido apenas extraída uma pequena quantidade adicional da amostra (coletada de rotina na investigação do primeiro episódio de apneia e, no caso da coleta do quarto dia de vida, juntamente com exames de rotina de pré-termos internados na UTI neonatal).

Cada RN admitido no estudo teve uma ficha preenchida com seus dados de identificação, dados maternos, sexo, IG, classificação quanto à IG, tipo de parto, PN e score de Apgar no 5<sup>o</sup> minuto de vida. Foram registrados também todos os dados da evolução clínica que foram relevantes para a avaliação posterior (Anexos II e III).

As amostras sanguíneas foram coletadas em sangue de cordão e em sangue periférico, utilizando seringas de 1 ml com heparina. O volume adicional de 500  $\mu$ l de sangue heparinizado foi centrifugado a 3.500 rotações por minuto (rpm) durante 5 minutos e o plasma

foi separado e armazenado a  $-80^{\circ}\text{C}$ , em tubos Eppendorf, identificado com o número do paciente, para posterior análise.

## 6.7 MÉTODO BIOQUÍMICO EMPREGADO PARA DETERMINAÇÃO DA CAFEÍNA

O método empregado para determinação da cafeína foi HPLC, método já empregado em várias pesquisas para dosagem da cafeína (FOENANDER et al., 1980; HARTLEY et al., 1984; SCOTT et al., 1984; HARTLEY et al., 1985; PICKARD et al., 1986; BIAGGIONI et al., 1988; TANAKA, 1992; SCHREIBER-DETURMENY, BRUGUEROLLE, 1996; GHOSHEH et al., 2000; KAWAHARA et al., 2004). As dosagens laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Pesquisa da Patologia Clínica, no HCPA, com a orientação da Profa. Dra. Carmem Pilla.

### 6.7.1 Sistema analítico

A cafeína foi dosada pelo método HPLC com o sistema analítico da Shimadzu, utilizando o controlador SCLC-10 A, detector UV-VIS SPD-10 A, em 273 nm (40 AUFS e range de 0,04) e bomba peristáltica LC-10 AD. Para detecção da cafeína, foi usada uma coluna analítica de fase reversa ODS C18 (159 mm x 4,6 mm) e uma fase móvel de acetonitrila/tetra-hidrofuram/ácido acético concentrado/água (20:20:5:955). A eluição foi procedida num fluxo de 1 ml/min e a coluna foi mantida a  $35^{\circ}\text{C}$  durante a separação. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

### 6.7.2 Padronização

Para a padronização, foi utilizada uma solução de cafeína com 2 mg/ml em água tipo II e, a partir dessa solução, foram preparadas soluções nas concentrações de 200, 500, 1.000, e 1.500 µg/ml para ser construída uma curva de calibração.

### 6.7.3 Amostra

A dosagem da cafeína foi realizada em sangue de cordão e em sangue periférico, sendo que 500 µl de sangue heparinizado foi centrifugado a 3.500 rpm por 5 minutos e o plasma foi separado e armazenado a -80° C, em tubos Eppendorf. No momento da dosagem, o plasma foi descongelado e homogeneizado, 50 µl de plasma misturado com 50 µl do padrão interno (7[b-hidroxi-propil]teofilina), 20 mg/100 ml) e 20 µl de ácido perclórico 20%. As amostras foram misturadas em vortex por 10 segundos e centrifugadas a 2.000 g por 5 minutos. O sobrenadante foi injetado diretamente no equipamento de HPLC observado os tempos de retenção da amostra e do padrão interno. Com base nas áreas dos picos obtidos na curva de calibração, foram calculadas as concentrações de cafeína das amostras de plasma.

## 6.8 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA

No cálculo do tamanho da amostra, foi considerada uma ocorrência da apneia de 20% e 55% nos grupos com nível sérico detectável de cafeína e nível sérico não detectável de cafeína, respectivamente. Para obter-se nível de significância de 5% e poder estatístico de 80%, o tamanho da amostra necessário foi de 80 pré-termos, tendo 40 pacientes em cada



grupo, considerando-se a regressão logística multifatorial e podendo realizar o ajuste para até quatro fatores de confusão.

## 6.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis foram descritas em mediana e amplitude interquartil (p25-p75) ou média  $\pm$  desvio padrão. Na análise das características dos grupos, foi utilizado o qui-quadrado, teste exato de Fisher, com exceção da variável peso ao nascer (onde foi utilizado o teste T Student) e escore de Apgar (utilizado o teste de Mann-Whitney), além das medidas de sumarização. Na análise dos níveis séricos da cafeína, foi aplicado o teste T e, na análise da detecção da cafeína no sangue, foi empregado qui-quadrado. Na avaliação do momento da apneia e da detecção da cafeína, foi empregada uma curva de tempo (Kaplan-Meier) e realizado Log Rank. O programa estatístico empregado foi o SPSS (*Statistical Package for Social Science*), nível de significância  $p < 0,05$ .

## 6.10 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Toda pesquisa realizada em seres humanos visa a um mínimo de intervenções possível. Com essa preocupação, os RNs não devem ser submetidos a procedimentos ou coleta de sangue exclusivamente para a pesquisa. A coleta de sangue do cordão umbilical já é utilizada em nosso serviço para outros fins (tipagem sanguínea, por exemplo), não acarretando dano para o bebê. Todas as amostras periféricas foram obtidas a partir da coleta de material já requisitado pelo médico assistente durante o procedimento usual ao paciente internado. O volume de sangue adicional ao já requerido pelo médico assistente foi mínimo. Cada RN coletou 0,5 ml de sangue extra, o que corresponde a menos de 1% da volemia do

paciente. Constitui-se em pesquisa de risco mínimo, pois o volume de sangue extraído do RN foi inferior a 2% de sua volemia (Normas de Pesquisa em Saúde).

Os pais ou familiares responsáveis pelo paciente foram devidamente informados e orientados conforme formulário de consentimento pós-informação (Anexo I), sendo que não foram admitidos no estudo RNs sem o prévio consentimento dos pais ou responsáveis legais.

O projeto de pesquisa foi submetido à avaliação do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre através da Comissão Científica e da Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde antes da coleta de qualquer dado.

## **7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdula S, Derbyshire E. Habitual caffeine intake in women of childbearing age. *J Hum Nutr Diet.* 2008;21:159-164.
2. Abu-Shaweesh JM. Maturation of respiratory reflex responses in the fetus and neonate. *Semin Neonatol.* 2004;9:169-180.
3. Abu-Shaweesh JM, Martin RJ. Neonatal apnea: what's new? *Pediatr Pulmonol.* 2008;43:937-944.
4. Aggarwal R, Singhal A, Deorari AK, Paul VK. Apnea in the newborn. *Indian J Pediatr.* 2001;68(10):959-962.
5. Al-Alaiyan S, Al-Rawithi S, Raines D, Yusuf A, Legayada E, Shoukri MM et al. Caffeine metabolism in premature infants. *J Clin Pharmacol.* 2001;41:620-627.
6. Alexander GR, Himes JH, Kaufman RB, Mor J, Kogan M. A United States national reference for fetal growth. *Obstet Gynecol.* 1996;87:163-168.
7. Aranda JV, Gorman W, Bergsteinsson H, Gunn T. Efficacy of caffeine in treatment of apnea in the low-birth-weight infant. *J Pediatr.* 1977;90(3):467.
8. Back SA, Craig A, Luo NL, Ren J, Akundi RS, Ribeiro I et al. Protective effects of caffeine on chronic hypoxia-induced perinatal white matter injury. *Ann Neurol.* 2006;60:696-705.
9. Bhatia J. Current options in the management of apnea of prematurity. *Clin Pediatr (Phila).* 2000;39(6):327-336.

10. Bauer J, Maier K, Linderkamp O, Hentschel R. Effect of caffeine on oxygen consumption and metabolic rate in very low birth weight infants with idiopathic apnea. *Pediatrics*. 2001;107:660-663.
11. Benitz WE. Use of caffeine for apnea of prematurity also has long-term neurodevelopmental benefits. *J Pediatr*. 2008;152(5):740-741.
12. Berhman RE, Kliegman RM, Jenson HB. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 17th ed. Saunders;2004:574.
13. Biaggioni I, Paul S, Robertson D. A simple liquid chromatographic method applied to determine caffeine in plasma and tissues. *Clin Chem*. 1988;34(11):2345-2348.
14. Björklund O, Kahlström J, Salmi P, Fredholm BB. Perinatal caffeine, acting on maternal adenosine A1 receptors, causes long-lasting behavioral changes in mouse offspring. *Plos One*. 2008;3(12):e3977.
15. Bodineau L, Cayetanot F, Sadani-Makki F, Bach V, Gros F, Lebleu A et al. Consequences of in utero exposure on respiratory output in normoxic and hypoxic conditions and related changes of Fos expression: a study on brainstem-spinal cord preparations isolated from newborn rats. *Pediatr Res*. 2003;53(2):266-273.
16. Bodineau L, Saadani-Makki F, Jullien H, Frugière A. Caffeine in the milk prevents respiratory disorders caused by in utero caffeine exposure in rats. *Respir Physiol Neurobiol*. 2006;150:94-98.
17. Boylan SM, Cade JE, Kirk SFL, Greenwood DC, White KLM, Shire S. et al. Assessing caffeine exposure in pregnant women. *Br J Nutr*. 2008;1-8.
18. Carvalho-Lopes M, Andrade JM. *Avanços em perinatologia*. Guanabara. 2005;191-209.
19. Chamberlain G. Checking for fetal wellbeing. *BMJ*. 1991;302:837-839.
20. Cloherty JP, Eichenwald EC, Stark AR. *Manual of neonatal care*. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins. 2004;338.

21. Comer AM, Perry CM, Figgitt DP. Caffeine citrate: A review of its use in apnea of prematurity. *Paediatr Drugs*. 2001;3(1):61-79.
22. Curzi-Dascalova L, Aujard Y, Gaultier C, Rajguru M. Sleep organization is unaffected by caffeine in premature infants. *J Pediatr*. 2002;140(6):766-771.
23. Di Fiore JM, Arko M, Whitehouse M, Kimball A, Martin RJ. Apnea is not prolonged by acid gastroesophageal reflux in preterm infants. *Pediatrics*. 2005;116(5):1059-1063.
24. Engoren M, Courtney SE, Habib RH. Effect of weight and age on respiratory complexity in premature neonates. *J Appl Physiol*. 2009;106:766-773.
25. Ergenekon E, Dalgic N, Aksoy E, Koç E, Atalay Y. Caffeine intoxication in a premature neonate. *Paediatr Anaesth*. 2001;11:737-739.
26. Finer NN, Higgins R, Kattwinkel J, Martin RJ. Summary proceedings from the apnea-of-prematurity group. *Pediatrics*. 2006;117:S47-S51.
27. Foenander T, Birkett DJ, Miners JO, Wing LM. The simultaneous determination of theophylline, theobromine and caffeine in plasma by high performance liquid chromatography. *Clin Biochem*. 1980;13(3):132-134.
28. Fredholm BB, Bättig K, Holmén J, Nehlig A, Zvartau EE. Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacol rev*. 1999;51(1):83-133.
29. Gannon BA. Theophylline or caffeine: which is best for apnea of prematurity? *Neonatal Netw*. 2000;19(8):33-36.
30. Gerdes JS. Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate. *Pediatr Clin North Am*. 2004;51(4):939-959.
31. Gerdes JS, Polin R. Early diagnosis and treatment of neonatal sepsis. *Indian J Pediatr*. 1998;65(1):63-78.

32. Ghosheh OA, Browne D, Rogers T, de Leon J, Dwoskin LP, Crooks PA. A simple high performance liquid chromatographic method for the quantification of total cotinine, total 3'-hydroxycotinine and caffeine in the plasma of smokers. *J Pharm Biomed Anal.* 2000;23(2-3):543-549.
33. Grosso LM, Bracken MB. Caffeine metabolism, genetics, and perinatal outcomes: a review of exposure assessment considerations during pregnancy. *Ann Epidemiol.* 2005;15:460-466.
34. Grosso LM, Triche EW, Belanger K, Benovitz NL, Holford TR, Bracken MB. Caffeine metabolites in umbilical cord blood, cytochrome P-450 1A2 activity, and intrauterine growth restriction. *Am J Epidemiol.* 2006;163:1035-1041.
35. Grosso LM, Triche E, Benovitz NL, Bracken MB. Prenatal caffeine assessment: fetal and maternal biomarkers or self-reported intake? *Ann Epidemiol.* 2008;18:172-178.
36. Hartley R, Cookman JR, Smith IJ. Simultaneous determination of caffeine and its N-demethylated metabolites in umbilical cord plasma using high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr.* 1984;Mar 9;306:191-203.
37. Hartley R, Smith IJ, Cookman JR. Improved high-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of caffeine and its N-demethylated metabolites in plasma using solid-phase extraction. *J Chromatogr.* 1985;Jul 12;342(1):105-117.
38. Heath PT, Yussof NKN, Baker CJ. Neonatal meningitis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2003;88:173-178.
39. Henderson-Smart DJ, Steer P. Prophylactic methylxanthine for preventing of apnea in preterm infants. *Cochrane Database System Review.* 2000;(2):CD 000432.
40. Henderson-Smart DJ, Steer P. Methylxanthine treatment for apnea in preterm infants. *Cochrane Database System Review.* 2001;(3):CD 000140.

41. Henderson-Smart DJ, Subramanian P, Davis PG. Continuous positive airway pressure versus theophylline for apnea in preterm infants. *Cochrane Database System Review*. 2001;(4):CD 001072.
42. Henderson-Smart DJ, Davis PG. Prophylactic methylxanthine for extubation in preterm infants. *Cochrane Database System Review*. 2003;(1):CD 000139.
43. Herlenius E, Adén U, Tang LQ. Perinatal respiratory control and its modulation by adenosine and caffeine in the rat. *Pediatr Res*. 2002;51:4-12.
44. Janvier A, Khairy M, Kokkotis A, Cormier C, Messmer D, Barrington KJ. Apnea is associated with neurodevelopmental impairment in very low birth weight infants. *J Perinatol*. 2004;Dec;24 (12):763-768.
45. Julien C, Bairam A, Joseph V. Chronic intermittent hypoxia reduces ventilatory long-term facilitation and enhances apnea frequency in newborn rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008;294:R1356-R1366.
46. Kassim Z, Greenough A, Rafferty GF. Effect of caffeine on respiratory muscle strength and lung function in prematurely born, ventilated infants. *Eur J Pediatr*. 2009;DOI 10.1007/s00431-009-0961-9.
47. Kawahara M, Kagiya H, Kanazawa Y, Tsuchiya H, Tomita K, Yokogawa K et al. Rapid determination method of caffeine and application to monitoring of caffeine-assisted chemotherapy. *Biopharm Drug Dispos*. 2004;25(2):61-67.
48. Khan A, Qurashi M, Kwiatkowski K, Cates D, Rigatto H. Measurement of the CO<sub>2</sub> apneic threshold in newborn infants: possible relevance for periodic breathing and apnea. *J Appl Physiol*. 2005;98:1171-1176.
49. Khanna NN, Somani SM. Maternal coffee drinking and unusually high concentrations of caffeine in the newborn. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1984;22(5):473-483.



50. Kopelman BI, dos Santos AMN, Goulart AL, de Almeida MFB, Myoshi MH, Guinsburg R. Diagnóstico e Tratamento em Neonatologia. Atheneu;2004;127.
51. Kuczkowski KM. Caffeine in pregnancy. Arch Gynecol Obstet. 2009;DOI 10.1007/s00404-009-0991-6.
52. Lee PA, Chernausek SD, Hokken-Koelega ACS, Czernichow P. International Small for gestational age advisory board consensus development conference statement: management of short children born small for gestational age, April 24-October 1, 2001. Pediatrics. 2003;111:1253-1261.
53. Lemke RP, Idiong N, Al-Saedi S, Kwiatkowski K, Cates DB, Rigatto H. Evidence of a critical period of airway instability during apneas in preterm infants. Am J Respir Crit Care Med. 1998;157:470-474.
54. Leon AE, Michienzi K, Ma CX, Hutchison AA. Serum caffeine concentrations in preterm neonates. Am J Perinatol. 2007;24(1):39-47.
55. Lopes JMA. Apneia neonatal. J Pediatr (Rio J). 2001;77(1):S97-S103.
56. McCulloch KM, Braun, RJ, Simms PE, Evans MA, Kelly DH. Transplacentally acquired caffeine and the occurrence of apnea, bradycardia, and periodic breathing in preterm infants: preliminary communication. Pediatr Pulmonol. 1989;7:66-70.
57. McGowan JD, Altman RE, Kanto WP. Neonatal withdrawal symptoms after chronic maternal ingestion of caffeine. South Med J. 1988;81:1092-1094.
58. Mesner O, Miller MJ, Iben SC, Kc P, Mayer CA, Haxhiu MA, et al. Hyperbilirubinemia diminishes respiratory drive in a rat pup model. Pediatr Res. 2008;64(3):270-274.
59. Miura E, Silveira RC, Procianoy RS. Sepsis neonatal: diagnóstico e tratamento. J Pediatr (Rio J). 1999;75(1):57-62.

60. Mongraw-Chaffin ML, Cohn BA, Cohen RD, Christianson RE. Maternal smoking, alcohol consumption, and caffeine consumption during pregnancy in relation to a son's risk of persistent cryptorchidism: a prospective study in the child health and development studies cohort, 1959-1967. *Am J Epidemiol.* 2008;167:257-261.
61. Montandon G, Bairam A, Kinkead R. Long-term consequences of neonatal caffeine on ventilation, occurrence of apneas, and hypercapnic chemoreflex in male and female rats. *Pediatr Res.* 2006;59:519-524.
62. Montandon G, Kinkead R, Bairam A. Adenosinergic modulation of respiratory activity: developmental plasticity induced by perinatal caffeine administration. *Respir Physiol Neurobiol.* 2008;164:87-95.
63. Natarajan G, Botica M, Thomas R, Aranda JV. Therapeutic drug monitoring for caffeine in preterm neonates: an unnecessary exercise? *Pediatrics.* 2007;119:936-940.
64. Norma de Pesquisa em Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução número 01 de 13 de Junho de 1988.
65. Pacheco AHRN, Barreiros NSR, Santos IS, Kac, G. Consumo de cafeína entre gestantes e a prevalência de baixo peso ao nascer e da prematuridade: uma revisão sistemática. *Cad Saúde Pública.* 2007;23(12):2807-2819.
66. Peter CS, Sprodowski N, Bohnhorst B, Silny J, Poets CF. Gastroesophageal reflux and apnea of prematurity: no temporal relationship. *Pediatrics.* 2002;109:8-11.
67. Pesce AJ, Rashkin M, Kotagal U. Standards of laboratory practice: theophylline and caffeine monitoring. *Clin Chem.* 1998;44(5):1124-1128.
68. Picard N, Guénin S, Larnicol N, Perrin Y. Maternal caffeine ingestion during gestation and lactation influences respiratory adaptation to acute alveolar hypoxia in newborn rats and adenosine A2A and GABAA receptor mRNA transcription. *Neuroscience.* 2008;156:630-639.

69. Pickard CE, Stewart AD, Hartley R, Lucick MD. A rapid HPLC method for monitoring plasma levels of caffeine and theophylline using solid phase extraction columns. *Ann Clin Biochem.* 1986;23(4):440-446.
70. Poblano A, Márquez A, Hernández G. Apnea in infants. *Indian J Pediatr.* 2006;73:1085-1088.
71. Rego MAC, Martinez FE. Repercussões clínicas e laboratoriais do CPAP nasal em RN pré-termo. *J Pediatr (Rio J).* 2000;76(5):339-348.
72. Roberts JL, Mathew OP, Thach BT. The efficacy of theophylline in premature infants with mixed and obstructive apnea associated with pulmonary and neurologic disease. *J Pediatr.* 1982;100:968-970.
73. Saadani-Makki F, Frugière A, Gros F, Gaytan S, Bodineau L. Involment of adenosinergic A1 systems in the occurrence of respiratory perturbations encountered in newborns following an in utero caffeine exposure. A study o brainstem-spinal cord preparations isolated from newborn rats. *Neuroscience.* 2004;127:505-518.
74. Savitz DA, Chan RL, Herring AH, Howards PP, Hartmann KE. Caffeine and miscarriage risk. *Epidemiology,* 2008;19(1):55-62.
75. Schmidt B. Methylxantine therapy for apnea of prematurity: evaluation of treatment benefits and risks at age 5 years in the international caffeine for apnea of prematurity (CAP) trial. *Biol Neonate.* 2005;88:208-213.
76. Schmidt B, Roberts RS, Davis P, Doyle LW, Barrington KJ, Ohlsson A et al. Caffeine therapy for apnea of apnea of prematurity. *N Eng J Med.* 2006;354(20):2112-2121.
77. Schmidt B, Roberts RS, Davis P, Doyle LW, Barrington KJ, Ohlsson A et al. Long-term effects of caffeine therapy for apnea of prematurity. *N Eng J Med.* 2007;357(19):1893-1902.

78. Schreiber-Deturmeny E, Bruguerolle B. Simultaneous high-performance liquid chromatographic determination of caffeine and theophylline for routine drug monitoring in human plasma. *J Chromatogr B*. 1996;677:305-312.
79. Scott NR, Chakraborty J, Marks V. Determination of caffeine, theophylline and theobromine in serum and saliva using high performance liquid chromatography. *Ann Clin Biochem*. 1984;21(2):120-124.
80. Soloveychik V, Bin-Nun A, Ionchev A, Sriram S, Meadow W. Acute hemodynamic effects of caffeine administration in premature infants. *J Perinatol*. 2009;29(3):205-208.
81. de Souza RAG, Schieri R. Consumo de cafeína e prematuridade. *Rev Nutr*. 2005;18(5):643-650.
82. Steer PA, Henderson-Smart DJ. Caffeine versus theophylline for apnea in preterm infants. *Cochrane Database System Review*. 2000;(2):CD000273.
83. Stevenson DK. On the caffeination of prematurity. *N Engl J Med*. 2007;357(19):1967-1968.
84. Tamim H, Khogali M, Beydoun H, Melki I, Yunis K. Consanguinity and apnea of prematurity. *Am J Epidemiol*. 2003;158:942-946.
85. Tanaka E. Simultaneous determination of caffeine and its primary demethylated metabolites in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr*. 1992;575(2):311-314.
86. Toubas PL, Duke JC, McCaffree MA, Mattice CD, Bendell D, Orr WC. Effects of maternal smoking and caffeine habits on infantile apnea: a retrospective study. *Pediatrics*. 1986;July, 78(1):159-163.
87. Upadhyay A, Deorari AK. Continuous positive airway pressure – a gentler approach to ventilation. *Indian Pediatr*. 2004;41:459-469.

88. Vergano S, Sharland M, Kazembe P, Mwansambo C, Heath PT. Neonatal sepsis: an international perspective. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2005;90:220-224.
89. Yoder B, Thomson M, Coalson J. Lung function in immature baboons with respiratory distress syndrome receiving early caffeine therapy: a pilot study. *Acta Paediatr.* 2005;94(1):92-98.
90. Wendler CC, Busovzky-MacNeal M, Gahtpande S, Kalinowski A, Russel KS, Rivkees SA. Embryonic caffeine exposure induces adverse effects in adulthood. *FASEB J.* 2008;0:fj.08-124941v1.
91. Weng X, Odouli R, Li D. Maternal caffeine consumption during pregnancy and the risk of miscarriage: a prospective cohort study. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198:279.e1-279.e8.

**8 Artigo em Português**

---

**NÍVEL SÉRICO DE CAFEÍNA NO CORDÃO  
UMBILICAL E APNEIA DA PREMATURIDADE**

## NÍVEIS SÉRICOS DE CAFEÍNA NO CORDÃO UMBILICAL E APNEIA DA PREMATURIDADE

Cláudia Regina Hentges (1)

Renata Rostirola Guedes (2)

Rita C. Silveira (3)

Renato S. Procianoy (4)

(1) Médica Neonatologista, aluna da Pós-Graduação em Pediatria da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

(2) Médica residente em Pediatria do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

(3) Professora Adjunta de Pediatria, UFRGS

(4) Professor Titular de Pediatria, UFRGS

Departamento de Pediatria, Serviço de Neonatologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil

Endereço para correspondência:

R. S. Procianoy

Rua Tobias da Silva 99 conj 302, Porto Alegre, RS, Brasil, CEP 90570-020.

Tel.:(51) 33315726.

Fax: (51)33312738.

email:renatosp@terra.com.br

**Fonte de financiamento: FIPE-HCPA.**

**Os autores declaram não haver conflito de interesse.**

## RESUMO

**Racional:** A cafeína é um potente estimulante respiratório, e os efeitos de sua presença no sangue de cordão umbilical na apneia da prematuridade são desconhecidos.

**Objetivo:** Determinar a influência da presença de cafeína no sangue de cordão umbilical na ocorrência de apneia.

**Métodos:** Estudo de coorte prospectivo de recém-nascidos pretermos com peso de nascimento menor de 2000 gramas. Os critérios de exclusão foram: mães que receberam opióides, ventilação mecânica durante os primeiros 4 dias de vida, malformação congênita cerebral e cardíaca maiores, asfixia perinatal, hemorragia peri-intraventricular severa, exsanguíneotransfusão antes do quarto dia de vida e uso de metilxantina antes da extubação. Os recém-nascidos foram divididos em: com e sem cafeína detectável no sangue de cordão umbilical e acompanhados nos primeiros quatro dias de vida para a ocorrência de apneia.

**Resultados:** 87 com e 40 sem cafeína detectável no sangue de cordão umbilical foram estudados. A mediana da concentração de cafeína dos 87 pacientes com cafeína detectável no sangue de cordão umbilical foi 2,3 µg/ml (0,2-9,4µg/ml). Não houve associação entre a ocorrência de apneia e a presença de cafeína no sangue de cordão umbilical. Recém-nascidos com cafeína detectável no cordão umbilical tiveram apnéia mais tarde (66.3 horas) do que aqueles com níveis indetectáveis (54.2 horas).

**Conclusão:** a detecção de níveis de cafeína no sangue de cordão umbilical não diminuiu a ocorrência de apneia da prematuridade. Nós sugerimos que novos estudos com a administração de altas doses de cafeína para mães antes do parto prematuro, como estratégia para prevenir a apneia da prematuridade, devam ser realizados.

**Palavras-chave:** prematuridade, apnéia da prematuridade, cafeína, recém-nascido de baixo peso, sangue de cordão umbilical



## **INTRODUÇÃO**

O tratamento da apneia da prematuridade inclui abordagem farmacológica com cafeína, um potente estimulante do sistema nervoso central que reduz a incidência da apneia neonatal, promove a consolidação de um padrão regular da respiração e aumenta a ventilação alveolar (1,2). O tratamento adequado das apnéias no período neonatal é de fundamental importância, já que se observa maior incidência de hemorragia periventricular (HPIV), hidrocefalia, leucomalácia periventricular (LPV), necessidade de suporte ventilatório por período de tempo mais prolongado e alterações do desenvolvimento neurológico no primeiro ano de vida, quando comparados com prematuros sem apnéia (3).

O papel do consumo materno de cafeína e a ocorrência de apnéias nos pré-termos tem sido motivo de interesse. Como a cafeína é uma substância que atravessa a barreira transplacentária (4-6) ela poderia estimular o centro respiratório do feto intra-uterinamente.

A cafeína é, provavelmente, a droga mais frequentemente ingerida no mundo, sendo consumida por pessoas em todas as idades. O consumo diário per capita de cafeína, considerando todas as fontes, é cerca de 3-7 mg/kg/dia, aproximadamente 200 mg/dia na população geral (4). O seu consumo é tão amplo que cerca de 95% das mulheres grávidas ingerem alguma cafeína, seja através da alimentação ou através de medicação (4). O papel da cafeína na gestação e a ocorrência de apnéia da prematuridade permanecem controversos. Sendo assim, este estudo tem o objetivo de analisar a influência da ingestão materna de cafeína e o desenvolvimento de apnéia da prematuridade nos primeiros dias de vida.

## **MÉTODOS**

Trata-se de um estudo de coorte prospectivo, realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Os pacientes estudados são os recém-nascidos pré-termos com peso de nascimento entre 1000 g e 2000 g e idade gestacional inferior a 37 semanas, nascidos em nosso hospital no período de março de 2006 a maio de 2008.

Foram excluídos os recém-nascidos cujas mães receberam opióides ou fármacos que levam à depressão do centro respiratório, recém-nascidos que permaneceram em ventilação mecânica durante os primeiros quatro dias de vida, com malformação congênita cerebral, asfíxia perinatal (escore de APGAR menor que 7 no 5º minuto de vida), HPIV graus 3 e 4, malformação cardíaca maior, realização de exsanguíneotransfusão antes do quarto dia de vida, recém-nascidos que apresentaram apnéia isolada sem necessidade de tratamento medicamentoso ou ventilatório e aqueles que receberam metilxantinas antes da extubação.

As variáveis em estudo foram: peso de nascimento, idade gestacional, escore de APGAR no quinto minuto de vida, sexo, história de pré-eclâmpsia materna, tipo de parto, pequeno para a idade gestacional (PIG), apneia, CPAP, ventilação mecânica (VM), doença da membrana hialina (DMH), presença de sepse e/ou meningite, anemia ( $Hb < 10$ ), persistência do canal arterial (PCA), HPIV, LPV e crise convulsiva.

O método empregado na avaliação da idade gestacional foi preferencialmente a idade gestacional obstétrica obtida por ultra-sonografia nas primeiras semanas de vida fetal ou, na impossibilidade deste dado, foi considerada a data da última menstruação confirmada pelo exame clínico do recém-nascido (7).

O peso de nascimento foi aferido em balança eletrônica e os recém-nascidos foram classificados de acordo com a curva de Alexander et al (8). Foram considerados como PIG os recém-nascidos abaixo do percentil 10 (8, 9).

Para o diagnóstico de sepse precoce, foram considerados os pacientes com quadro clínico e com hemocultura positiva (10-12). No caso de hemocultura positiva por estafilococo coagulase negativa, só foram considerados como sepse os pacientes com hemograma e proteína C reativa alterados e tratados com antibioticoterapia adequada ao germe com resposta à terapêutica. Todos pacientes com diagnóstico de sepse foram submetidos à punção

lombor . Para o diagnóstico de meningite considerou-se os pacientes com alteração líquórica e cultura de líquido com presença de germe.

Ultrassonografia cerebral (USC) foi realizada em todos recém-nascidos com peso de nascimento abaixo de 1.500 g para diagnóstico de HPIV e LPV. De acordo com a rotina assistencial do Serviço, os pré-termos cujo peso de nascimento era superior a 1500 gramas, que apresentassem qualquer intercorrência clínica, inclusive apnéia, também realizavam USC. Ecocardiograma foi realizado em todo pré-termo com suspeita clínica de PCA.

Previamente a coleta e inclusão, era lido o termo de consentimento aos pais ou responsável. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA (projeto 06-048).

Os recém-nascidos pré-termos que preenchiam critérios de inclusão no estudo tiveram sangue venoso do cordão umbilical coletado, imediatamente após o parto. Em seguida, eram acompanhados na UTI neonatal para ocorrência de apneia durante os primeiros quatro dias de vida. O diagnóstico de apneia foi realizado através da monitorização do paciente e do quadro clínico. Apnéia foi definida como pausa da respiração por 20 segundos ou mais, ou pausa de menor duração se acompanhada de cianose, hipotensão ou bradicardia (13).

Os recém-nascidos foram divididos em dois grupos:

Grupo 1: recém-nascidos pré-termos com cafeína detectável no sangue de cordão umbilical

Grupo 2: recém-nascidos pré-termos com cafeína indetectável no sangue de cordão umbilical

As amostras sanguíneas foram coletadas em sangue de cordão utilizando seringas com heparina. Após, 500 µl de sangue heparinizado foram centrifugados a 3500 rpm, durante por 5 minutos e o plasma separado e armazenado a -80<sup>0</sup> C, em tubos Eppendorf, identificado com o número do paciente. O método empregado para determinação da cafeína foi cromatografia

líquida de alta pressão (HPLC), método já empregado em várias pesquisas para dosagem da cafeína (14-19).

#### Análise estatística

Nós não encontramos nenhum estudo similar para uso do cálculo do tamanho da amostra; então assumimos uma ocorrência da apnéia de 20% e 55% nos grupos com cafeína detectável e cafeína indetectável, respectivamente. Para obter-se nível de significância de 5% e poder estatístico de 80%, o tamanho da amostra necessário foi de 80 prematuros, tendo 40 pacientes em cada grupo, considerando-se a regressão logística multifatorial e podendo realizar o ajuste para até 4 fatores de confusão.

As variáveis foram descritas em mediana e amplitude interquartil (p25-p75) ou média  $\pm$  desvio padrão. Na análise das características dos grupos, foi utilizado o qui-quadrado, teste exato de Fisher, com exceção da variável peso ao nascer (onde foi utilizado o teste T Student) e escore de APGAR (utilizado o teste de Mann-Whitney), além das medidas de sumarização. Na análise da detecção da cafeína no sangue foi empregado o qui-quadrado. Regressão logística foi realizada nas variáveis com  $p \leq 0,10$  com análise univariada. O programa estatístico empregado foi o SPSS (Statistical Package for Social Science), nível de significância  $p < 0.05$ .

## **RESULTADOS**

O sangue de cordão umbilical foi coletado em 151 prematuros; destes 21 foram posteriormente excluídos (7 por apresentar apnéia 1x sem necessidade de tratamento, 5 por permanecerem em ventilação mecânica até o 4º dia de vida, 5 por uso de aminofilina antes da extubação, 3 por HPIV grau 3-4, 1 por exsanguíneotransfusão) e 3 perdidos (2 em função de quantidade de amostra insuficiente para a dosagem de cafeína e 1 devido à solicitação do familiar). A população do estudo foi constituída por 127 recém-nascidos com idade gestacional média de  $32,5 \pm 1,8$  sem e a média do peso de nascimento de  $1594 \pm 276$  g.

O grupo 1 foi constituído por 87 recém-nascidos e o grupo 2 por 40. A média da concentração de cafeína dos 87 pacientes com cafeína detectável no sangue de cordão umbilical foi de 2,3 µg/ml (variação: 0,2-9,4 µg/ml; variação interquartil: 1,5-3,5 µg/ml).

As características dos grupos encontram-se descritas na tabela 1. Pacientes do grupo 2 tiveram idade gestacional menor significativamente menor e necessitaram mais suporte ventilatório (CPAP e VM) que aqueles do grupo 1.

O modelo de regressão logística empregado tomou a presença de cafeína no sangue de cordão umbilical como fator dependente e como fatores independentes a idade gestacional, ocorrência de apneia, uso de CPAP e VM. Nenhum desses demonstrou significância estatística (tabela 2).

Considerando-se o momento da ocorrência de apnéia e a detecção de cafeína no sangue de cordão umbilical, os recém-nascidos com presença de cafeína no sangue de cordão umbilical tiveram uma tendência a apresentar apnéia mais tardiamente – grupo 1 média 66,3 ± 4,14 horas, grupo 2 média 54,2 ± 6,26 horas ( $p = 0,067$ ).

## **DISCUSSÃO**

O presente estudo mostrou que os recém-nascidos com níveis detectáveis e indetectáveis de cafeína no sangue de cordão apresentaram ocorrência similar de apnéia, e entre os que apresentaram apnéia, os que tinham níveis de cafeína detectável no sangue de cordão apresentaram apnéia mais tardiamente. Não houve diferença significativa entre os grupos com e sem cafeína quanto ao peso de nascimento, escore de APGAR, sexo, pré-eclâmpsia materna, tipo de parto, PIG, presença de sepse, anemia, PCA, HPIV, LPV e crise convulsiva. No grupo sem cafeína detectável no sangue de cordão umbilical, a idade gestacional foi significativamente menor, e eles necessitaram maior suporte ventilatório, sugerindo o papel da imaturidade nesse grupo de pacientes. A regressão logística demonstrou que nenhuma dessas variáveis esteve associada com a presença de cafeína no sangue de cordão umbilical.

Vários estudos foram realizados com o objetivo de quantificar o uso materno de cafeína na gestação. Concentrações de cafeína e paraxantina na saliva foi medida em gestantes do Reino Unido (os níveis de cafeína no plasma e na saliva são fortemente correlacionados) e a média de concentração da cafeína foi de 0,45 µg/ml (5). Outro estudo realizado nos EUA, demonstrou que entre gestantes no terceiro trimestre de gestação e com relato de baixo consumo de cafeína a média do nível sérico dessa substância no sangue de cordão umbilical foi de 0,48 µg/ml (variação entre 0- 10,49 µg/ml). Mulheres que referiram consumo  $\geq$  300 mg/dia de cafeína no terceiro trimestre tiveram recém-nascidos com média de nível sérico de cafeína no sangue de cordão umbilical de 2,1 µg/ml (6). Nosso estudo obteve resultado semelhante, indicando um alto consumo de cafeína na população estudada.

McCulloch e colaboradores dosaram cafeína no sangue de cordão umbilical em 79 prematuros (20). Onze bebês (14%) tiveram níveis detectáveis de cafeína, enquanto 68 tiveram níveis indetectáveis de cafeína. O nível sérico de cafeína variou entre 1,1 a 3,7 µg/ml. Não houve diferença na ocorrência de apnéia entre os dois grupos, porém o diagnóstico de apnéia era obtido através de pneumografia e essa só era realizada após estabilidade clínica e em pacientes sem necessidade de suporte ventilatório ou oxigenioterapia, excluindo assim os pacientes graves. No nosso estudo, a taxa de detecção da cafeína assim como seus níveis séricos foram mais elevados que os deste estudo, provavelmente porque nossa população teve uma maior ingestão de cafeína.

Cafeína tem sido utilizada no tratamento da apneia da prematuridade, e seu nível terapêutico relatado é de 5 a 20 µg/ml (2). Os níveis detectáveis no sangue de cordão umbilical em nosso estudo foram baixos; sendo assim, nós sugerimos que não houve diminuição da ocorrência da apneia por que nossos níveis detectáveis estiveram abaixo dos níveis terapêuticos. Uma limitação do nosso estudo é a falta de comparação do número de

episódios de apneia entre ambos os grupos. A primeira escolha no tratamento da apneia da prematuridade em nossa unidade é a metilxantina, e o seu uso pode confundir o resultado.

Em um estudo retrospectivo, onde foram aplicados questionários para 298 mães de bebês com apnéia antes da realização de uma polissonografia que seria realizada como parte da avaliação do paciente, determinou que o uso materno de cafeína e cigarro durante a gestação esteve relacionado com apneia central. No caso do consumo de cafeína durante a gestação, mesmo após ajuste para a idade gestacional, idade na avaliação e peso de nascimento, um aumento de 1 mg/dia esteve associado a aumento de 1 apnéia/hora. Foi sugerido que recém-nascidos expostos cronicamente a cafeína intra-útero poderiam ser mais sensíveis aos episódios de hipóxia (21). Nós não questionamos as mães sobre a ingestão de cafeína durante a gestação; nós medimos a concentração de cafeína no sangue de cordão umbilical que não é um indicador de uso crônico de cafeína.

Estudos experimentais demonstraram que ratos recém-nascidos cujas ratas receberam cafeína durante a gestação tiveram seu padrão respiratório alterado (22). Sobre condições de normóxia, os animais tratados com cafeína apresentaram maior frequência respiratória do que o grupo controle, e sobre condições de hipóxia, a depressão respiratória resultante foi enfatizada pela exposição de cafeína intra-útero (22, 23). Esse dado coincide com a taquipnéia encontrada em recém-nascidos de gestantes que tiveram um importante consumo de cafeína na gestação (24).

Pré-terms com peso de nascimento entre 500 a 1250 g tratados com cafeína durante os primeiros 10 dias tiveram uma redução nas taxas de displasia broncopulmonar e apresentaram um melhor desenvolvimento neuropsicomotor com 18 a 21 meses que o grupo controle (25, 26). Nós não incluímos em nosso estudo pré-terms com peso de nascimento menor que 1000 g, não investigamos a associação entre cafeína no sangue de cordão umbilical e

ocorrência de displasia broncopulmonar e/ou desenvolvimento neuropsicomotor, contudo estes estudos devem ser encorajados.

Em nosso estudo, a detecção de níveis de cafeína no sangue de cordão umbilical não diminuiu a ocorrência de apneia da prematuridade, mas atrasou a sua ocorrência, sugerindo que mesmo um baixo nível de cafeína no sangue de cordão umbilical atrasa a ocorrência da apneia da prematuridade. Sugerimos que novos estudos com a administração de altas doses de cafeína antes do parto prematuro como estratégia para prevenir a apneia da prematuridade devem ser conduzidos.

### **AGRADECIMENTOS**

Nós agradecemos a Vania Naomi Hirakata pelo auxílio na análise estatística e Carmen Pilla pela assistência na análise laboratorial da cafeína.

### **BIBLIOGRAFIA**

1. Henderson-Smart DJ, Steer P. Methylxanthine treatment for apnea in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2001;3:CD000140.
2. Aranda JV, Gorman W, Bergsteinsson H, Gunn T. Efficacy of caffeine in treatment of apnea in the low-birth-weight infant. *J Pediatr.* 1977; 90: 467-472.
3. Janvier A, Khairy M, Kokkotis A, Cormier C, Messmer D, Barrington KJ. Apnea is associated with neurodevelopmental impairment in very low birth weight infants. *J Perinatol.* 2004; 24 : 763-768.
4. Souza RAG, Schieri R. Caffeine intake and prematurity. *Rev. Nutr.* 2005; 18: 643-650.
5. Boylan SM, Cade JE, Kirk SFL, Greenwood DC, White KLM, Shire S, Simpson NA, Wild CP, Hay AW. Assessing caffeine exposure in pregnant women. *Br J Nutr.* 2008; 1-8.



6. Grosso LM, Triche E, Benovitz NL, Bracken MB. Prenatal caffeine assessment: fetal and maternal biomarkers or self-reported intake? *Ann Epidemiol.* 2008; 18:172-178.
7. Chamberlain G. Checking for fetal wellbeing – I. *BMJ.* 1991; 302:837-839.
8. Alexander GR, Himes JH, Kaufman RB, Mor J, Kogan M. A United States national reference for fetal growth. *Obstet Gynecol.* 1996; 87: 163-168.
9. Lee PA, Chernausk SD, Hokken-Koelega ACS, Czernichow P. International Small for gestational age advisory board consensus development conference statement: management of short children born small for gestational age, April 24-October 1, 2001. *Pediatrics.* 2003; 111:1253-1261.
10. Gerdes JS. Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate. *Pediatr Clin North Am.* 2004; 51:939-959.
11. Silveira RC, Procianoy RS. Evaluation of interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and interleukin-1beta for early diagnosis of neonatal sepsis. *Acta Paediatr.* 1999;88:647-50.
12. Vergano S, Sharland M, Kazembe P, Mwansambo C, Heath PT. Neonatal sepsis: an international perspective. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2005; 90:220-224.
13. Poblano A, Márquez A, Hernández G. Apnea in infants. *Indian J Pediatr.* 2006; 73: 1085-1088.
14. Schreiber-Deturmeny E, Bruguerolle B. Simultaneous high-performance liquid chromatographic determination of caffeine and theophylline for routine drug monitoring in human plasma. *J Chromatogr B.* 1996; 677: 305-312.
15. Biaggioni I, Paul S, Robertson D. A simple liquid chromatographic method applied to determine caffeine in plasma and tissues. *Clin Chem.* 1988; 34: 2345-2348.

16. Pickard CE, Stewart AD, Hartley R, Lucick MD. A rapid HPLC method for monitoring plasma levels of caffeine and theophylline using solid phase extraction columns. *Ann Clin Biochem.* 1986; 23: 440-446.
17. Tanaka E. Simultaneous determination of caffeine and its primary demethylated metabolites in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr.* 1992; 575:311-314.
18. Foenander T, Birkett DJ, Miners JO, Wing LM. The simultaneous determination of theophylline, theobromine and caffeine in plasma by high performance liquid chromatography. *Clin Biochem.* 1980; 13: 132-134.
19. Scott NR, Chakraborty J, Marks V. Determination of caffeine, theophylline and theobromine in serum and saliva using high performance liquid chromatography. *Ann Clin Biochem.* 1984; 21: 120-124.
20. McCulloch KM, Braun, RJ, Simms PE, Evans MA, Kelly DH. Transplacentally acquired caffeine and the occurrence of apnea, bradycardia, and periodic breathing in preterm infants: preliminary communication. *Pediatr Pulmonol.* 1989; 7: 66-70.
21. Toubas PL, Duke JC, McCaffree MA, Mattice CD, Bendell D, Orr WC. Effects of maternal smoking and caffeine habits on infantile apnea: a retrospective study. *Pediatrics.* 1986; 78: 159-163.
22. Bodineau L, Cayetanot F, Sadani-Makki F, Bach V, Gros F, Lebleu A, Collin T, Frugière A. Consequences of in utero exposure on respiratory output in normoxic and hypoxic conditions and related changes of Fos expression: a study on brainstem-spinal cord preparations isolated from newborn rats. *Pediatr Res.* 2003; 53: 266-273.
23. Herlenius E, Adén U, Tang LQ. Perinatal respiratory control and its modulation by adenosine and caffeine in the rat. *Pediatr Res.* 2002; 51:4-12.

24. McGowan JD, Altman RE, Kanto WP. Neonatal withdrawal symptoms after chronic maternal ingestion of caffeine. *South Med J*. 1988; 81:1092-1094.
25. Schmidt B, Roberts RS, Davis P, Doyle LW, Barrington KJ, Ohlsson A, Solimano A, Tin W; Caffeine for Apnea of Prematurity Trial Group. Caffeine therapy for apnea of prematurity. *N Engl J Med*. 2006; 354:2112-21.
26. Schmidt B, Roberts RS, Davis P, Doyle LW, Barrington KJ, Ohlsson A, Solimano A, Tin W; Caffeine for Apnea of Prematurity Trial Group. Long-term effects of caffeine therapy for apnea of prematurity. *N Engl J Med*. 2007; 357:1893-902.

Tabela 1 – Características dos grupos estudados

	Grupo 1	Grupo 2	P
N	87	40	127
Peso de nascimento(gramas)	1625 ±262	1528 ± 295	0.06
Idade gestacional (semanas)	32.8 ± 1.6	31.98 ±1.99	0.009
Escore APGAR 5 minutos	9.0	8.78	0.12
Masculino	41 (47.1%)	23 (57.5%)	0.37
Pré-eclâmpsia	25 (28.7%)	9 (22.5%)	0.60
Parto vaginal	27 (31%)	11 (27.5%)	0.84
Pequeno para idade gestacional	45 (51.7%)	24 (60%)	0.49
Apneia	34 (39.1%)	53 (60.9%)	0.08
CPAP	47 (54%)	32 (80%)	0.009
Ventilação mecânica	10 (11.5%)	15 (37.5%)	0.001
Doença da membrana hialina	9 (10.3%)	6 (15%)	0.55
Sepse	4 (4.6%)	0	0.30
Meningite	0	0	1
Anemia	2 (2.3%)	0	0.84
Persistência do canal arterial	3 (3.4%)	3 (7.5%)	0.58
Hemorragia peri-intraventricular	5 (5.7%)	3 (7.5%)	1
Leucomalácea periventricular	3 (3.4%)	6 (15%)	0.14
Convulsões	1 (1.1%)	0	1

Grupo 1: cafeína detectável no sangue de cordão umbilical

Grupo 2: cafeína indetectável no sangue de cordão umbilical

Valores expressos em média ± DP, mediana (p25-p75), número absoluto de recém-nascidos (%)

Teste t de Student, qui-quadrado, teste exato de Fisher, teste de Mann-Whitney.

Tabela 2. Associação com a presença de cafeína no sangue de cordão umbilical

Variável	OR	IC 95%	p
Idade gestacional	1.039	0.889 – 1.213	0.631
Apneia	1.109	0.632 – 1.945	0.719
CPAP	0.830	0.492 – 1.401	0.486
Ventilação mecânica	0.588	0.282 – 1.227	0.157

OR: odds ratio

IC 95%: intervalo de confiança 95%

**9 Artigo em Inglês**

---

**SERUM LEVELS OF CAFFEINE IN UMBILICAL  
CORD AND APNEA OF PREMATURITY**

**SERUM LEVELS OF CAFFEINE IN UMBILICAL CORD AND APNEA OF  
PREMATURITY**

Running Title: Umbilical cord caffeine and apnea of prematurity

Cláudia Regina Hentges, MD

Renata Rostirola Guedes, MD

Rita C. Silveira, PhD, MD

Renato S. Procianoy, PhD, MD

Department of Pediatrics, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, and Newborn Section,  
Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil

Corresponding author:

R. S. Procianoy, Rua Tobias da Silva 99 conj 302, Porto Alegre, RS, Brazil, CEP 90570-020.

Tel.:+55-51-33315726. Fax: +55-51-33312738. email:renatosp@terra.com.br

The authors do not have any conflict of interest to disclose.

This study was supported in part by a grant from FIPE-HCPA.

## **ABSTRACT**

**Background:** Caffeine is a potent respiratory stimulant, and the effect of its presence in umbilical cord blood on apnea of prematurity is unknown.

**Objective:** To determine the influence of presence of caffeine in umbilical cord blood on apnea occurrence.

**Methods:** A prospective cohort study with preterm newborns with birth weight less than 2000 grams was undertaken. Exclusion criteria were: mothers that received opioids, mechanical ventilation during the first 4 days of life, cerebral and major cardiac malformations, perinatal asphyxia, severe periintra ventricular hemorrhage, exchange transfusion before the fourth day of life, and those that received methylxantine prior to extubation. Neonates were divided in: with detectable and undetectable caffeine in umbilical cord blood. Newborns were followed for the first 4 days for occurrence of apnea spells.

**Results:** 87 with and 40 without detectable caffeine in umbilical cord blood were studied. The median caffeine concentration of the 87 patients with detectable caffeine in umbilical blood was 2.3 µg/ml (0.2 -9.4 µg/ml). There was no association between occurrence of apnea spells and presence of caffeine in umbilical cord blood. Neonates with detectable caffeine in umbilical blood had apnea later ( $66.3 \pm 4.14$  hours) than those with undetectable levels ( $54.2 \pm 6.26$  hours).

**Conclusion:** The detected levels of caffeine in umbilical cord blood did not decrease the occurrence of apnea of prematurity. We suggest that further studies on administration of high dose of caffeine to mothers prior to a preterm delivery as a preventive measure for apnea of prematurity deserve to be conducted.

**Keywords:** prematurity, apnea of prematurity, caffeine, low birth weight infant, umbilical cord blood.



## **INTRODUCTION**

The treatment of apnea of prematurity includes pharmacological approach with caffeine, a powerful stimulant of the central nervous system that reduces the occurrence of neonatal apnea, promotes consolidation of a regular pattern of breathing and increases alveolar ventilation [1, 2]. Adequate treatment of apnea in the neonatal period is of great importance, as a higher incidence of periventricular hemorrhage (PIVH), hydrocephalia, periventricular leukomalacia (PVL), need for ventilatory support for longer time and alterations in neurological development are observed in the first year of life when preterm infants with apnea were compared to those without apnea [3].

The role of maternal consumption of caffeine and the occurrence of apnea in preterm neonates has aroused general interest. As caffeine is a substance that crosses the placental barrier, it could stimulate intrauterine the respiratory center of the fetus [4-6].

Caffeine is probably the most frequently drug taken in the world, consumed by people of all ages. Daily caffeine consumption per capita, considering all sources, is around 3-7 mg/kg/day, approximately 200 mg/day in the general population [4]. Its consumption is so common that around 95% of pregnant women take some caffeine, either through diet or medication [4]. The role of caffeine in pregnancy and the occurrence of apnea of prematurity remain controversial. The aim of this study was to determine the influence of the presence of caffeine in umbilical cord blood and the occurrence of apnea of prematurity in the first days of life.

## **METHODS**

This was a prospective cohort study, conducted at Hospital de Clínicas de Porto Alegre. The studied patients were preterm neonates of birth weight between 1000 g and 2000 g and gestational age under 37 weeks, born at our hospital between March 2006 and May 2008.

The study excluded neonates whose mothers received opioids or drugs that led to respiratory center depression, neonates that remained in mechanical ventilation during the first four days of life, with cerebral congenital malformations, perinatal asphyxia (Apgar score under 7 at the 5th minute of life), PIVH degrees 3 and 4, major cardiac malformations, exchange transfusion before the fourth day of life, neonates who presented one isolated apnea with no need for drug or ventilatory treatment, and those that received methylxantine prior to extubation.

The studied variables were: birth weight, gestational age, Apgar score at the fifth minute of life, gender, maternal preeclampsia, mode of delivery, small for gestational age (SGA), apnea, CPAP, mechanical ventilation, respiratory distress syndrome (RDS), presence of sepsis and/or meningitis, anemia (hemoglobin < 10 g/dl), patent ductus arteriosus (PDA), PIVH, PVL, and seizures.

The method utilized in the gestational age assessment was preferably the obstetric gestational age obtained through ultrasonography in the first weeks of fetal life or, if such data were unavailable, the date of most recent menstruation confirmed through clinical exam of the neonate [7].

Birth weight was measured using an electronic scale and the neonates were classified according to the curve of Alexander et al. [8]. Neonates under percentile 10 were considered as SGA [8, 9].

For the diagnosis of early sepsis, the study considered the patients that presented clinical conditions and positive blood culture [10-12]. In case of positive blood culture for *Staphylococcus* coagulase-negative, the patients were considered with sepsis only if presenting complete blood count and C-reactive protein with alterations and treated with adequate antibiotics to the germ with response to the therapy. All patients with diagnosis of

sepsis were submitted to lumbar puncture. For the diagnosis of meningitis, we considered those with abnormal cerebrospinal fluid and positive culture.

Cerebral ultrasonography (CUS) was performed in all neonates with birth weight under 1,500 g for the diagnosis of PIVH and PVL. According to the service routine, preterm neonates whose birth weight were above 1,500 grams and presented any clinical problem including apnea were submitted to CUS. Echocardiogram was performed in all preterm neonates with clinical suspicion of PDA.

Before the collection and inclusion, the consent term was read to the parents or person in charge. The study was approved by the Research Ethics Committee of HCPA (project nº 06-048).

Preterm neonates who fulfilled the inclusion criteria had their umbilical venous blood collected, immediately after birth. They were monitored during their stay at neonatal ICU for occurrence of apnea spells during the first four days of life. Diagnosis of apnea was performed through patient's monitoring, and it was defined as interruption of breathing for 20 seconds or more, or interruption of shorter duration if followed by cyanosis, hypotension or bradyarrhythmia [13].

The neonates were divided into two groups:

Group 1: preterm neonates with caffeine detected in umbilical cord blood

Group 2: preterm neonates with no caffeine detected in umbilical cord blood

Blood samples were collected from umbilical blood using syringes with heparin. After that, 500 µl of heparinized blood were centrifuged at 3500 rpm, for 5 minutes, and plasma was separated and stored at -80°C, in Eppendorf tubes, identified with the patient's number. High pressure liquid chromatography (HPLC) was the method utilized to determine caffeine, which has been employed in several studies on caffeine dosage [14-19].

### Statistical analysis

We did not find any similar study to use for sample size calculation; hence we assumed an apnea occurrence of 20% and 55% for the groups with detectable and undetectable caffeine levels respectively. For a significance level of 5% and statistical power of 80%, the required sample size was 80 preterm neonates, with 40 patients in each group, considering the multifactor logistic regression and the possibility of adjustment to up to 4 confusion factors.

Variables were described as median and interquartile amplitude (p25-p75) or mean  $\pm$  standard deviation. The characteristics of the groups were analyzed using chi-square test, Fisher's exact test, except for birth weight variable (which used Student's t test) and Apgar score which used Mann-Whitney test. The analysis of caffeine detection in blood employed the chi-square test. Logistic regression was performed for those variables with  $p \leq 0.10$  on univariable analysis. The study utilized statistical program SPSS (Statistical Package for Social Science) 14.0 and considered the significance level of  $p < 0.05$ .

### RESULTS

Umbilical blood was collected in 151 preterm neonates; 21 of them were subsequently excluded (7 for presenting apnea once with no need for treatment, 5 for remaining in mechanical ventilation until the 4th day of life, 3 for PIVH degrees 3 and 4, 1 for exchange transfusion, 5 for methylxantine prior to extubation), and 3 were lost (2 due to insufficient sampled quantity for caffeine dosage and 1 due to family request). The study population was constituted by 127 neonates with a mean gestational age of  $32.5 \pm 1.8$  weeks and mean birth weight of  $1594 \pm 276$  g.

Group 1 was formed by 87 newborns and Group 2 by 40. The median caffeine concentration of the 87 patients with detectable caffeine in umbilical blood was  $2.3 \mu\text{g/ml}$  (range:  $0.2 - 9.4 \mu\text{g/ml}$ ; interquartile range:  $1.5 - 3.5 \mu\text{g/ml}$ ).

Table 1 shows the characteristics of the groups. Patients in Group 2 had a statistically significant lower gestational age, and required more respiratory support (CPAP and mechanical ventilation) than those of Group 1.

The logistic regression model employed took the presence of caffeine in umbilical cord blood as a dependent factor, and as independent factors gestational age, occurrence of apnea, use of CPAP and mechanical ventilation. None of them showed significance (Table 2).

Neonates with presence of caffeine in umbilical blood showed a trend to have apnea later: Group 1 and Group 2 had apnea at  $66.3 \pm 4.14$  hours and  $54.2 \pm 6.26$  hours after birth respectively ( $p = 0.067$ ).

## **DISCUSSION**

This study showed that neonates with detectable and undetectable levels of caffeine in umbilical cord blood had similar occurrence of apnea, and among the neonates who presented apnea, the occurrence was later in preterm neonates with those detectable levels of caffeine. No significant difference was observed between the groups with and without caffeine detected in umbilical cord blood in terms of birth weight, Apgar score, gender, maternal preeclampsia, mode of delivery, SGA, presence of sepsis, anemia, RDS, PDA, PIVH, PVL and seizures. In the group with no detected caffeine in umbilical cord blood, gestational age was significantly lower, and they required more respiratory support suggesting a role for immaturity in this group of patients. Logistic regression analysis showed that none of those variables was associated with the presence of caffeine in umbilical cord blood.

Some studies quantified maternal use of caffeine during pregnancy. Concentrations of caffeine and paraxanthine in saliva were measured in pregnant women in the United Kingdom (levels of caffeine in plasma and saliva are strongly correlated), and the mean concentration of caffeine was  $0.45 \mu\text{g/ml}$  [5]. It was shown in the USA that, among women in the third trimester of pregnancy that reported low consumption of caffeine, mean serum level of this

substance in umbilical blood was 0.48  $\mu\text{g/ml}$  (ranging between 0 and 10.49  $\mu\text{g/ml}$ ), and women that reported consumption  $\geq 300$  mg/day of caffeine in the third trimester of pregnancy had neonates with mean serum level of caffeine in umbilical cord blood of 2.1  $\mu\text{g/ml}$  [6]. We obtained a similar result, indicating a high consumption of caffeine by the mothers of our studied population.

McCulloch et al. quantified caffeine in umbilical blood of 79 preterm neonates [20]. Eleven of them (14%) had detectable levels of caffeine, while 68 had undetectable levels of caffeine, and serum levels of caffeine ranged from 1.1 to 3.7  $\mu\text{g/ml}$ . No difference was observed in occurrence of apnea between the two groups, but the diagnosis of apnea was obtained through pneumography, which was performed only after clinical stability and in patients that did not require ventilatory support or oxygen therapy, thus excluding patients with serious conditions. In our study, caffeine detection rate and serum levels of caffeine were higher than the results of that study, probably because our population had higher caffeine ingestion.

Caffeine has been used as treatment for apnea of prematurity, and the therapeutic level is reported to be 5 to 20  $\mu\text{g/ml}$  [2]. Umbilical cord caffeine levels detected in our study were low; hence, we suggest that there was no decrease in the occurrence of apnea because our detectable levels were below the therapeutic levels. One limitation of our study is the lack of comparison in the number of apnea spells between both groups. The first choice for treatment of apnea of prematurity in our unit is methylxantine, and its use would bias the result.

In a retrospective study that applied questionnaires on cigarette and caffeine consumption during and after pregnancy to 298 mothers of infants with apnea before a polysomnography as part of the patient's assessment determined that maternal caffeine and cigarette use during pregnancy were related to central apnea. For caffeine consumption during pregnancy, even after the adjustment to gestational age, age at evaluation and birth weight, the

increase of 1 mg/day was associated with an increase of 1 apnea/hour. It was suggested that neonates chronically exposed to intrauterine caffeine could be more sensitive to occurrences of hypoxia [21]. We did not enquire the mothers about caffeine ingestion during pregnancy; we measured caffeine concentration in umbilical cord blood that is not an indicator of a chronic use of caffeine.

Experimental studies showed that recently born rats whose mothers had received caffeine during pregnancy had altered respiratory pattern [22]. Under conditions of normoxia animals treated with caffeine presented higher breathing frequency than a control group, and under conditions of hypoxia, the resulting respiratory depression was emphasized by intrauterine exposure to caffeine [22, 23]. Such data agrees with the tachypnea found in neonates of women who reported an important consumption of caffeine during pregnancy [24].

Preterm infants with birth weight of 500 to 1,250 grams treated with caffeine during the first 10 days have a reduced rate of bronchopulmonary dysplasia, and present a better neurodevelopmental outcome at 18 to 21 months than a control group [25, 26]. We did not include in our study preterm infants with birth weight less than 1000 grams, and we did not investigate the association between the presence of caffeine in umbilical cord blood and occurrence of bronchopulmonary dysplasia and /or neurodevelopmental outcome; however those studies should be encouraged.

In our study, the detected levels of caffeine in umbilical cord blood did not decrease the occurrence of apnea of prematurity, but it delayed its occurrence, suggesting that even a low level of caffeine in umbilical cord blood delays the occurrence of the apnea spells. We suggest that further studies on administration of high dose of caffeine to mothers prior to a preterm delivery as a preventive strategy for apnea of prematurity deserve to be conducted.

## ACNOWLEDGEMENTS

We thank Vania Naomi Hirakata for assistance with the statistical analysis, and Carmen Pilla, BSc, for assistance with the laboratory analysis of caffeine.

## REFERENCES

1. Henderson-Smart DJ, Steer P. Methylxanthine treatment for apnea in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2001;3:CD000140.
2. Aranda JV, Gorman W, Bergsteinsson H, Gunn T. Efficacy of caffeine in treatment of apnea in the low-birth-weight infant. *J Pediatr.* 1977; 90: 467-472.
3. Janvier A, Khairy M, Kokkotis A, Cormier C, Messmer D, Barrington KJ. Apnea is associated with neurodevelopmental impairment in very low birth weight infants. *J Perinatol.* 2004; 24 : 763-768.
4. Souza RAG, Schieri R. Caffeine intake and prematurity. *Rev. Nutr.* 2005; 18: 643-650.
5. Boylan SM, Cade JE, Kirk SFL, Greenwood DC, White KLM, Shire S, Simpson NA, Wild CP, Hay AW. Assessing caffeine exposure in pregnant women. *Br J Nutr.* 2008; 1-8.
6. Grosso LM, Triche E, Benovitz NL, Bracken MB. Prenatal caffeine assessment: fetal and maternal biomarkers or self-reported intake? *Ann Epidemiol.* 2008; 18:172-178.
7. Chamberlain G. Checking for fetal wellbeing – I. *BMJ.* 1991; 302:837-839.
8. Alexander GR, Himes JH, Kaufman RB, Mor J, Kogan M. A United States national reference for fetal growth. *Obstet Gynecol.* 1996; 87: 163-168.



9. Lee PA, Chernausek SD, Hokken-Koelega ACS, Czernichow P. International Small for gestational age advisory board consensus development conference statement: management of short children born small for gestational age, April 24-October 1, 2001. *Pediatrics*. 2003; 111:1253-1261.
10. Gerdes JS. Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate. *Pediatr Clin North Am*. 2004; 51:939-959.
11. Silveira RC, Procianoy RS. Evaluation of interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and interleukin-1beta for early diagnosis of neonatal sepsis. *Acta Paediatr*. 1999;88:647-50.
12. Vergano S, Sharland M, Kazembe P, Mwansambo C, Heath PT. Neonatal sepsis: an international perspective. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2005; 90:220-224.
13. Poblano A, Márquez A, Hernández G. Apnea in infants. *Indian J Pediatr*. 2006; 73: 1085-1088.
14. Schreiber-Deturmeny E, Bruguerolle B. Simultaneous high-performance liquid chromatographic determination of caffeine and theophylline for routine drug monitoring in human plasma. *J Chromatogr B*. 1996; 677: 305-312.
15. Biaggioni I, Paul S, Robertson D. A simple liquid chromatographic method applied to determine caffeine in plasma and tissues. *Clin Chem*. 1988; 34: 2345-2348.
16. Pickard CE, Stewart AD, Hartley R, Lucick MD. A rapid HPLC method for monitoring plasma levels of caffeine and theophylline using solid phase extraction columns. *Ann Clin Biochem*. 1986; 23: 440-446.
17. Tanaka E. Simultaneous determination of caffeine and its primary demethylated metabolites in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr*. 1992; 575:311-314.

18. Foenander T, Birkett DJ, Miners JO, Wing LM. The simultaneous determination of theophylline, theobromine and caffeine in plasma by high performance liquid chromatography. *Clin Biochem.* 1980; 13: 132-134.
19. Scott NR, Chakraborty J, Marks V. Determination of caffeine, theophylline and theobromine in serum and saliva using high performance liquid chromatography. *Ann Clin Biochem.* 1984; 21: 120-124.
20. McCulloch KM, Braun, RJ, Simms PE, Evans MA, Kelly DH. Transplacentally acquired caffeine and the occurrence of apnea, bradycardia, and periodic breathing in preterm infants: preliminary communication. *Pediatr Pulmonol.* 1989; 7: 66-70.
21. Toubas PL, Duke JC, McCaffree MA, Mattice CD, Bendell D, Orr WC. Effects of maternal smoking and caffeine habits on infantile apnea: a retrospective study. *Pediatrics.* 1986; 78: 159-163.
22. Bodineau L, Cayetanot F, Sadani-Makki F, Bach V, Gros F, Lebleu A, Collin T, Frugière A. Consequences of in utero exposure on respiratory output in normoxic and hypoxic conditions and related changes of Fos expression: a study on brainstem-spinal cord preparations isolated from newborn rats. *Pediatr Res.* 2003; 53: 266-273.
23. Herlenius E, Adén U, Tang LQ. Perinatal respiratory control and its modulation by adenosine and caffeine in the rat. *Pediatr Res.* 2002; 51:4-12.
24. McGowan JD, Altman RE, Kanto WP. Neonatal withdrawal symptoms after chronic maternal ingestion of caffeine. *South Med J.* 1988; 81:1092-1094.
25. Schmidt B, Roberts RS, Davis P, Doyle LW, Barrington KJ, Ohlsson A, Solimano A, Tin W; Caffeine for Apnea of Prematurity Trial Group. Caffeine therapy for apnea of prematurity. *N Engl J Med.* 2006; 354:2112-21.

26. Schmidt B, Roberts RS, Davis P, Doyle LW, Barrington KJ, Ohlsson A, Solimano A, Tin W; Caffeine for Apnea of Prematurity Trial Group. Long-term effects of caffeine therapy for apnea of prematurity. *N Engl J Med.* 2007; 357:1893-902.

Table 1 – Characteristics of the studied groups

	Group 1	Group 2	P
N	87	40	127
Birth weight (grams)	1625 ±262	1528 ± 295	0.06
Gestational age (weeks)	32.8 ± 1.6	31.98 ±1.99	0.009
5 minutes Apgar score	9.0	8.78	0.12
Male	41 (47.1%)	23 (57.5%)	0.37
Preeclampsia	25 (28.7%)	9 (22.5%)	0.60
Vaginal delivery	27 (31%)	11 (27.5%)	0.84
Small for gestational age	45 (51.7%)	24 (60%)	0.49
Apnea	34 (39.1%)	53 (60.9%)	0.08
CPAP	47 (54%)	32 (80%)	0.009
Mechanical Ventilation	10 (11.5%)	15 (37.5%)	0.001
Respiratory Distress Syndrome	9 (10.3%)	6 (15%)	0.55
Sepsis	4 (4.6%)	0	0.30
Meningitis	0	0	1
Anemia	2 (2.3%)	0	0.84
Patent Ductus Arteriosus	3 (3.4%)	3 (7.5%)	0.58
Periintraventricular Hemorrhage	5 (5.7%)	3 (7.5%)	1
Periventricular Leukomalacia	3 (3.4%)	6 (15%)	0.14
Seizures	1 (1.1%)	0	1

Group 1: caffeine detected in umbilical cord blood

Group 2: no caffeine detected in umbilical cord blood

Values expressed as mean ± sd, median (p25-p75), absolute number of newborns (%)

Students' t test, chi-square, Fisher's exact test, Mann-Whitney test.

Table 2. Association with presence of caffeine in umbilical cord blood

Variable	OR	CI 95%	p
Gestational Age	1.039	0.889 – 1.213	0.631
Apnea	1.109	0.632 – 1.945	0.719
CPAP	0.830	0.492 – 1.401	0.486
Mechanical Ventilation	0.588	0.282 – 1.227	0.157

OR: odds ratio

CI 95%: confidence interval 95%

## **10 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

---

## **10 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Nesse estudo, os níveis detectáveis de cafeína no sangue de cordão umbilical foram baixos; sendo assim, pode-se sugerir que não houve diminuição da ocorrência da apneia por que os níveis detectáveis estiveram abaixo dos níveis terapêuticos.

Nesse trabalho a detecção de níveis de cafeína no sangue de cordão umbilical não diminuiu a ocorrência de apneia da prematuridade, mas atrasou a sua ocorrência, sugerindo que mesmo um baixo nível de cafeína no sangue de cordão umbilical atrasa a ocorrência da apneia da prematuridade.

Sugere-se que novos estudos com a administração de altas doses de cafeína antes do parto prematuro como estratégia para prevenir a apneia da prematuridade devam ser conduzidos.

## **ANEXOS**

---



## ANEXO I

### TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Gostaria de convidar o paciente sob a sua responsabilidade para participar da pesquisa em andamento nesta UTI Neonatal – “Determinação dos níveis de cafeína no sangue de cordão umbilical de pré-termos e ocorrência de apneia na primeira semana de vida” – realizada pela Dra. Cláudia Hentges, sob a orientação do Dr. Renato Procianoy.

O objetivo do trabalho é analisar a influência da ingestão materna da cafeína (café, chás, refrigerantes e outros) no aparecimento de apneia nos pré-termos. A apneia (parada da respiração) ocorre em bebês que nascem antes do tempo e pode levar a problemas neurológicos, se não for tratada. As causas desse problema ainda não são bem estabelecidas.

Para conhecer novas formas de tratamento no futuro, solicito seu consentimento na admissão do seu filho ou tutelado no estudo. Seu filho não será submetido ao exame de sangue exclusivamente para a pesquisa. Será coletada uma amostra de sangue do cordão umbilical no nascimento do bebê e outra amostra juntamente com o sangue coletado para os exames de rotina na UTI neonatal. Os riscos são mínimos para o bebê, já que a quantidade de sangue coletado é pequena. Todos os dados serão mantidos em sigilo. Seu filho poderá ser retirado do estudo, se assim for seu desejo a qualquer momento, sem prejuízo do atendimento durante toda sua internação na UTI.

Eu, \_\_\_\_\_, responsável pelo recém-nascido de \_\_\_\_\_, fui informado dos objetivos do estudo e sua justificativa. Recebi informações sobre o procedimento no qual meu filho ou tutelado está envolvido, bem como sobre os desconfortos ou riscos possíveis, e sobre os benefícios esperados. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novas informações a qualquer momento, contatando o pesquisador responsável (Dr. Renato Procianoy) para esclarecimento de eventuais dúvidas, estando o mesmo à disposição para contato pelo telefone (51) 2101-8142 UTI Neonatal HCPA.

Declaro, portanto, que autorizo a inclusão de meu filho ou tutelado na pesquisa realizada pela Dra. Cláudia Hentges, sob orientação do Dr. Renato Procianoy.

Assinatura do responsável \_\_\_\_\_

Assinatura da pesquisadora \_\_\_\_\_

Informações: (51) 21018142 UTI Neonatal HCPA  
Celular da Dra Cláudia: (51) 9828 9430

Porto Alegre, \_\_\_\_\_

## ANEXO II

### PROTOCOLO

ID: \_\_\_\_\_ Registro: \_\_\_\_\_  
 Nº: \_\_\_\_\_ DN \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ SEXO: 1. F 2. M

**História obstétrica:**

IGO: \_\_\_\_\_ G \_\_\_\_ P \_\_\_\_ C \_\_\_\_ Ab \_\_\_\_ Gemelar \_\_\_\_\_  
 Eco pré-natal ( ) \_\_\_\_\_  
 Sorologias maternas ( ) \_\_\_\_\_  
 HAS/PEG/Eclâmpsia ( ) \_\_\_\_\_  
 Medicções no pré-natal ( ) \_\_\_\_\_  
 Bolsa rota ( ) \_\_\_\_\_ horas  
 Analgesia trabalho de parto ( ) \_\_\_\_\_

**Parto:**

Vaginal ( ) Vaginal + fórceps ( ) Cesárea ( )  
 PN: \_\_\_\_\_ g IG (sem) \_\_\_\_\_ Classificação IG: PIG ( ) AIG ( ) GIG ( )  
 Apgar: 1<sup>o</sup> min. \_\_\_\_\_ 5<sup>o</sup> min \_\_\_\_\_ 10<sup>o</sup> min \_\_\_\_\_

**Evolução neonatal:**

Apneia Sim ( ) Não ( )  
 Horas de vida no primeiro episódio de apneia \_\_\_\_\_ PA \_\_\_\_\_ g IGC \_\_\_\_\_  
 Tratamento medicamentoso apneia ( ) Qual? \_\_\_\_\_  
 CPAP ( ) Se sim, quantos dias? \_\_\_\_\_  
 VM ( ) Se sim, quantos dias? \_\_\_\_\_  
 DMH ( ) \_\_\_\_\_  
 Sepses ( ) \_\_\_\_\_  
 Meningite ( ) \_\_\_\_\_  
 Anemia (Hb < 10) ( ) \_\_\_\_\_  
 PCA ( ) \_\_\_\_\_  
 Asfíxia ( ) \_\_\_\_\_  
 Hemorragia cerebral ( ) Se sim, qual grau? \_\_\_\_\_  
 Leucomalácia periventricular ( ) \_\_\_\_\_  
 Crises convulsivas ( ) \_\_\_\_\_

Horas de vida na coleta periférica \_\_\_\_\_ PA \_\_\_\_\_ g IGC \_\_\_\_\_ Grupo \_\_\_\_\_  
 Grupo 1 - coleta após apneia  
 Grupo 2 - coleta no quarto dia de vida – Suporte ventilatório (1) CPAP (2) não  
 Cafeína no sangue de cordão \_\_\_\_\_  
 Cafeína na coleta periférica \_\_\_\_\_

Alta ( ) Óbito ( )  
 1 – SIM 2 – NÃO

ANEXO III

BANCO DE DADOS DE RECÉM-NASCIDOS ADMITIDOS NO ESTUDO

RN	Sex	DHG	DOEMA	Medic	Parto	PN	IG	Class	LM	Apgar 1	Apgar 5	Apneia	TTO	CPAP	VM	DMH	Seque	Mening	Anem	PCA	Asfix	HPiV	Leuco	CC	SCORDAO	SPERIF	Hapneia	
1	2	1	2	2	2	1835	34	2	1	8	10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	1	2,7	888
2	2	1	2	1	2	1220	32	1	1	5	8	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	3,1	7,7	888
3	1	1	2	1	2	1125	30	2	2	6	9	1	1	1	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2,7	1,7	5
4	1	2	1	1	2	1835	34	2	1	7	9	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2			888
5	1	2	2	2	1	1730	36	1	1	9	10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2			888
6	2	1	2	1	2	1775	34	1	1	4	8	1	1	1	1	2	1	2	2	2	2	2	888	888	2		1,4	7
7	1	2	2	2	1	1720	36	1	1	8	10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	1,2	1,2	888
8	1	2	2	2	1	1875	35	1	1	8	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2			888
9	1	1	2	1	2	1120	32	1	1	7	10	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2,3	90	90
10	2	2	2	2	1	1585	31	2	2	6	8	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	9,4	2,6	5
11	2	2	1	1	1	1495	29	2	2	3	8	1	2	1	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2		30	30
12	1	2	2	2	2	1895	35	1	1	7	10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	1,6	1,5	888
13	1	1	2	1	1	1435	36	1	1	8	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1,5	2,3	888
14	1	2	2	1	2	1695	32	2	2	9	10	2	2	1	2	2	2	2	2	1	2	2	888	888	2	2,2	1,6	888
15	1	1	1	1	2	1070	30	1	2	5	8	1	1	1	1	2	2	1	2	2	2	2	2	1	2	2,2	4,7	12
16	1	2	2	2	1	1960	35	1	1	8	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2,2	1,8	888
17	2	2	2	1	2	1360	32	1	1	8	10	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2		888	888
18	2	1	1	1	2	1800	35	1	1	9	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	1,9	7,1	888
19	2	1	1	1	2	1780	35	1	1	8	10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	3	4,6	888
20	2	1	2	2	2	1780	34	1	1	5	9	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	7	2,2	888
21	1	2	2	1	2	1830	33	2	1	8	10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	3,9		888
22	2	2	2	2	1	1885	33	2	2	6	8	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	888	888	2		2,6	16
23	2	2	2	1	2	1250	32	1	1	9	10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1,7	3,4	888
24	2	2	2	1	2	1650	32	1	1	9	10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2			888
25	2	2	2	1	1	1770	33	2	1	10	10	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	0,9	1,0	3
26	1	2	1	1	2	1630	34	1	1	4	8	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	1,2		888
27	1	1	2	1	2	1730	34	1	1	7	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	1		888
28	2	2	2	1	2	1805	32	2	1	8	10	1	1	1	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	9,1	4,3	2
29	1	2	2	2	2	1215	30	1	2	8	10	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	1	2	5	4,5	6
30	1	1	2	1	2	1020	30	1	2	6	9	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2		6,4	24
31	2	2	2	1	1	1615	33	1	1	7	8	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	3,2	3,1	10
32	1	2	2	1	2	1720	32	2	1	8	9	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	2	888	888	2			888
33	2	2	2	2	2	1755	34	1	1	9	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2			888
34	2	2	2	2	2	1910	34	1	1	8	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	3,5	1,6	888
35	1	1	2	1	2	1045	31	1	2	1	7	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	1	2	2		2,3	2,3
36	2	2	2	2	2	1985	33	2	1	9	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	5,3	3,1	888
37	1	2	2	1	2	1455	35	1	1	8	10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2,6	1,3	888
38	1	2	2	2	2	1880	32	2	1	0	7	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	888	888	2			888
39	1	2	2	1	1	1935	33	2	1	8	10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2			888
40	2	1	1	1	1	1055	26	2	2	8	10	1	1	1	1	1	2	1	2	2	2	2	2	1	2		0,7	28
41	2	2	2	1	2	1585	32	2	1	9	10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	1,2		888
42	1	2	2	1	2	1345	31	2	1	5	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	1,0		888

RN	Sex	DHG	DOEMA	Medic	Parto	PN	IG	Class	LM	Apagar	Apagar	5	Apnea	TTO	CPAP	VM	DMH	Sepe	Mening	Anem	PCA	Asfix	HPIV	Leuco	CC	SCORDAO	SPERIF	Hapnea		
43	1	2	2	2	2	1600	33	1	1	8	10	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	888	888	2	2,7	4,1	888		
44	2	2	2	2	2	1375	31	2	1	7	8	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	0,6	888		
45	2	2	2	2	2	1690	31	2	2	9	10	1	2	1	2	2	2	2	2	2	1	2	2	888	888	2	3,0	4,0	23	
46	1	1	1	1	2	1345	31	2	2	9	9	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1,2	1,1	37	
47	2	2	2	2	2	1830	34	2	2	8	9	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	5,0	4,4	20	
48	2	2	2	2	2	1810	34	1	1	9	9	2	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2			888	
49	2	1	2	2	2	1900	34	1	1	9	9	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	3,6		36	
50	1	2	2	2	2	1310	30	2	2	8	9	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	2,5	2,1	12
51	2	1	2	1	2	1700	33	1	1	10	10	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	4,0		888	
52	1	2	2	2	2	1715	33	1	1	7	8	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1		25	
53	1	2	2	2	2	1460	33	1	1	8	10	1	1	1	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	1		48	
54	1	2	2	2	2	1810	35	1	1	7	9	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2,1	1,3	888	
55	1	2	2	2	2	1965	35	2	1	8	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	3,8	2,7	888	
56	2	2	2	2	2	1320	30	2	1	6	9	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	4,8	1,8	11	
57	2	2	2	2	2	1895	32	2	2	9	10	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	1,7		888	
58	2	1	1	1	2	1990	34	1	1	7	9	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2			888	
59	2	2	2	2	2	1680	32	2	1	6	9	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1,7		888	
60	2	2	2	1	1	1140	32	1	2	7	9	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1	2	2	1	2			6	
61	1	2	2	2	2	1940	33	2	1	7	9	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	1,5	0,8	888	
62	1	2	2	2	2	1540	36	1	1	8	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1,8	1,3	888	
63	1	1	2	2	2	1300	32	2	1	7	9	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	6,8	4,9	38	
64	2	1	2	2	2	1730	34	1	1	9	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	1,7	1,6	888	
65	1	2	2	2	2	1655	34	1	1	2	8	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2			888	
66	1	2	2	1	2	1895	34	1	1	8	9	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2			888	
67	2	1	2	1	2	1925	33	2	1	6	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	2,6	1,8	888	
68	2	2	2	2	2	1750	32	2	1	8	10	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	0,5	0,5	12	
69	1	2	2	2	2	1885	33	2	1	8	10	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	0,4	0,8	4	
70	1	2	1	1	2	1320	31	2	2	5	9	1	1	1	1	1	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	3,3	2,1	1	
71	1	1	2	1	2	1645	35	1	1	6	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	1,4	0,7	888	
72	1	1	2	2	2	1410	33	1	1	8	9	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	1,2	0,8	888	
73	2	1	1	2	2	1700	33	1	2	3	10	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	6	4,1	6	
74	2	1	1	1	2	1895	33	2	2	2	9	2	2	1	2	2	2	2	2	2	1	2	2	888	888	2	3,1	5,2	888	
75	2	2	2	2	2	1975	33	2	1	9	10	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	8,8	3,9	888	
76	2	2	2	2	2	1225	31	1	2	8	9	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2,1	2,1	1	
77	2	2	2	2	2	1105	31	1	2	5	7	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1,5		18	
78	1	1	2	2	2	1035	28	2	2	8	8	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	0,8		10	
79	1	2	2	2	2	1930	34	1	1	7	8	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2,9	3,2	888	
80	2	1	2	2	2	1445	33	1	1	8	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0,2		888	
81	2	2	2	2	2	1985	34	2	1	9	10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	3,6	0,9	888	
82	1	2	2	2	2	1690	32	2	1	7	8	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	4,1	12,8	888	
83	2	2	2	2	2	1120	32	1	2	9	9	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	7,9	0,3	15	
84	2	2	2	2	2	1460	30	2	1	8	9	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2			888	
85	2	2	2	2	2	1275	30	2	2	8	9	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0,1	0,1	16	
86	1	2	1	1	1	1595	33	1	1	10	10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	0,1	0,2	888	
87	1	2	2	1	2	1240	29	2	2	8	9	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	0,3	0,2	24	
88	2	1	2	1	2	1380	32	1	2	6	9	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	10		10	
89	2	1	2	1	2	1360	31	2	2	8	9	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0,2		46	
90	1	2	2	2	2	1085	29	2	2	6	8	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1,6		13	
91	2	2	2	2	2	1965	33	2	1	10	10	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2			82	

RN	Sex	DHG	DOEMA	Medic	Parto	PN	IG	Class	LM	Apgar I	Apgar 5	Apnea	TTO	CPAP	VM	DMH	Sepe	Mening	Anem	PCA	Asfix	HPIV	Leuco	CC	SCORDAO	SPERIF	Hapnea	
92	2	2	2	1	1	1700	35	1	1	8	9	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	1,4	888		
93	2	2	2	2	1	1660	34	1	2	8	10	1	1	1	2	2	2	1	2	2	2	2	888	888	2	1,9	4,1	2,5
94	1	2	2	1	2	1920	33	2	1	9	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	0,3	0,2	888
95	2	1	1	1	2	1960	34	2	2	8	9	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	1	4,6	4,1	46
96	1	1	1	1	2	1310	31	2	1	5	8	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	
97	1	2	1	1	2	1270	31	1	2	4	9	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	5	5	
98	1	2	1	1	2	1460	31	1	2	9	10	1	1	1	1	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	5	7	
99	2	2	2	1	2	1100	30	2	2	5	7	1	1	1	1	1	2	1	2	2	2	2	2	1	2	2	7	
100	2	2	2	2	2	1745	33	2	1	9	10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	1,9	1,2	888
101	1	2	2	1	2	1340	32	1	2	7	8	1	1	1	1	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	14	14
102	2	2	2	1	2	1155	32	1	2	1	7	1	1	1	1	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	0,2	18
103	1	1	1	1	2	1930	34	1	2	2	8	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	1,3	1,3	888
104	2	2	2	2	2	1290	30	2	2	8	9	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	1	2	2	12	12
105	2	2	2	1	1	1575	33	1	2	9	10	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	2	888	888	2	2,2	1,8	888
106	1	2	2	2	2	1740	33	2	2	3	9	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	2	888	888	2	5,8	4	888
107	1	1	2	1	2	1730	35	1	1	4	8	2	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	888	888	2	3,1	0,1	888
108	2	2	2	2	1	1745	33	2	2	6	8	1	1	1	2	1	1	2	2	2	2	2	888	888	2	7,6	6,2	48
109	1	2	2	1	1	1430	34	1	1	8	8	2	2	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	1,8	2,4	888
110	2	2	2	2	1	1805	32	2	1	5	10	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	2,1	2,1	36
111	2	2	2	1	2	1550	32	2	2	9	9	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	2,3	1,7	10
112	2	1	2	1	1	1820	34	1	1	9	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	4	2,3	888
113	1	2	2	1	2	1650	33	1	1	10	10	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	2	888	888	2	2,8	2,4	888
114	2	2	2	1	2	1855	32	2	1	7	9	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	3	1,8	888
115	1	2	1	1	2	1340	33	1	2	8	9	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3,5	3,5	24
116	1	2	1	1	2	1695	33	1	2	8	9	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	3,2	2,5	888
117	1	2	2	2	2	1440	33	1	2	9	10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2,5	2,3	888
118	1	2	2	2	2	1615	34	1	1	8	9	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	4	2,8	888
119	1	2	2	1	1	1615	34	1	1	8	10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888	2	1,7	1,5	888
120	2	1	2	1	2	1965	34	2	2	8	9	1	2	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	1,9	2	36
121	1	2	2	1	1	1905	35	1	1	9	10	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	888	888	2	2	2	888
122	2	2	2	2	2	1620	29	1	1	8	9	1	1	1	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	96	96
123	2	2	1	1	2	1520	33	1	2	6	8	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	30	30	
124	2	1	1	1	2	1515	33	1	1	8	9	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	888	888
125	1	2	2	2	2	1845	32	2	2	8	9	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	888	888	2	2,2	1,6	36
126	1	2	2	2	2	1330	30	2	2	2	7	1	1	1	1	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2,3	1,8	20
127	1	2	2	2	2	1255	30	2	2	7	8	1	1	1	1	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2,5	2,3	20



# 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](#)