

**JÚLIO AMARO DE SÁ KONESKI**

**CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS E CITOLOGIA DO  
LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO DE RECÉM-NASCIDOS  
A TERMO COM ASFIXIA PERINATAL**

**Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Santa  
Catarina para obtenção do título  
de Mestre em Ciências Médicas.**

**FLORIANÓPOLIS – SC**

**Fevereiro, 2006**

**JÚLIO AMARO DE SÁ KONESKI**

**CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS E CITOLOGIA DO  
LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO DE RECÉM-NASCIDOS  
A TERMO COM ASFIXIA PERINATAL**

**Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Santa Catarina  
para obtenção do título de  
Mestre em Ciências Médicas**

**Coordenadora: Profa. Dra. Márcia Margarete Menezes Pizzichini  
Orientadora: Profa. Dra. Maria Marlene de Souza Pires**

**FLORIANÓPOLIS – SC  
Fevereiro, 2006**

*À minha esposa **Giselle**,  
que me inspira e me ilumina,  
pelo seu eterno apoio, estímulo  
e tolerância às longas horas roubadas,  
e aos meus filhos **Francisco** e **Rafael**,  
que me fazem feliz 24hs por dia.*

*Agradecimentos especiais*

*À Professora Dra. Maria Marlene de Souza Pires, minha orientadora, que assumiu a orientação desta pesquisa, com extrema paciência, atenção, carinho, imensa sabedoria e uma incrível palavra de estímulo;*

*À Professora Dra. Anna Lectícia Ribeiro Pinto, colega, colaboradora, incentivadora e responsável por infindáveis revisões e discussões, desde a idéia básica inicial desta pesquisa até os detalhes finais.*

## AGRADECIMENTOS

À **Profa. Dra. Sílvia Modesto Nassar**, pela intensa colaboração na análise estatística dos dados desta pesquisa.

Aos professores **Drs. Márcia Margarete Menezes Pizzichini e Armando J. D'Acampora**, coordenadores do Mestrado em Ciências Médicas.

Aos professores, colegas e funcionários do **curso de Mestrado**, por infindáveis trocas de conhecimento.

Ao **Prof. Dr. Luís Roberto Ágea Cútulo**, pela orientação na fase inicial desta pesquisa.

Aos colegas da **Clínica Neurológica e Neurocirúrgica de Joinville**, pelo incentivo e apoio.

Aos médicos e funcionários do **NeuroCentro - Centro de Diagnósticos**, pela realização dos exames de eletroencefalografia.

Ao **Dr. Paulo Roberto Furlanetto**, diretor da Maternidade Darci Vargas, por permitir que esta pesquisa fosse realizada nessa instituição.

Aos neonatologistas, obstetras e residentes da **Maternidade Darci Vargas**, pelo intenso apoio, incentivo e sugestão apresentadas durante esta pesquisa.

Ao **Dr. Paulo Gimenes**, bioquímico responsável pelo laboratório de análises clínicas da Maternidade Darci Vargas, pela realização dos exames laboratoriais desta pesquisa.

A toda minha **grande família**, que acredita em mim e me incentiva.

Às **crianças e seus pais**, que aceitaram participar desta pesquisa.



Universidade Federal de Santa Catarina  
Centro de Ciências da Saúde  
Mestrado em Ciências Médicas

JÚLIO AMARO DE SÁ KONESKI

ESSA DISSERTAÇÃO FOI JULGADA ADEQUADA PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE  
**MESTRE EM CIÊNCIAS MÉDICAS**

COM ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA E APROVADA EM SUA  
FORMA FINAL PELO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

Prof.ª. Dra. Marcia Margaret Menezes Pizzichini  
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Prof.ª. Dra. Maria Marlene de Souza Pires  
Orientadora

Prof.ª. Dra. Anna Leticia Ribeiro Pinto  
Membro

Prof.ª. Dra. Mônica Lisboa Chang Wayhs  
Membro

Prof. Dr. Carlos Alberto Justo e Silva  
Membro

Florianópolis, 31 de março de 2006.





Universidade Federal de Santa Catarina  
Centro de Ciências da Saúde  
Mestrado em Ciências Médicas

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

CANDIDATO: *JÚLIO AMARO DE SÁ KONESKI*

A partir das quatorze horas do dia trinta e um de março do ano dois mil e seis, na Sala de Aula do Curso de Mestrado de Ciências Médicas, localizado no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, a Comissão Examinadora, constituída pelos Professores Maria Marlene de Souza Pires, Anna Lectícia Ribeiro Pinto, Mônica Lisboa Chang Wayhs e Carlos Alberto Justo e Silva procedeu ao exame da Dissertação de Mestrado apresentada pelo aluno **JÚLIO AMARO DE SÁ KONESKI**, intitulada “**CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS E CITOLOGIA DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO EM RECÉM-NASCIDOS A TERMO COM ASFIXIA PERINATAL**”. Após explanação feita pelo candidato, o mesmo foi argüido pela Comissão Examinadora, nos termos da Resolução 010/CUn/97 e Regimento Interno do Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão e lavrou-se a presente ata que vai ser assinada por todos os membros da Comissão Examinadora.

NOME:	ASSINATURA	CONCEITO
Profª. Dra Maria Marlene de Souza Pires.....		A
Profª. Dra. Anna Lectícia Ribeiro Pinto.....		A
Profª. Dra. Mônica Lisboa Chang Wayhs.....		A
Prof. Dr. Carlos Alberto Justo e Silva.....		A

Florianópolis, 31 de março de 2006.

**Profª. Drª. Maria Marlene de Souza Pires**  
Presidente da Comissão Examinadora



Koneski, Júlio Amaro de Sá

Características bioquímicas e citologia do líquido cefalorraquidiano de recém-nascidos a termo com asfixia perinatal / Júlio Amaro de Sá Koneski. - Florianópolis, 2006. 73p.

Orientadora: Maria Marlene de Souza Pires.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina – Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas.

1. Líquido cefalorraquidiano. 2. Recém-nascidos.  
3. Asfixia neonatal. I. Características bioquímicas e citologia do líquido cefalorraquidiano de recém-nascidos a termo com asfixia perinatal.



## ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	7
LISTA DE TABELAS.....	8
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1 – INTRODUÇÃO.....	11
2 – OBJETIVOS.....	19
3 – MÉTODO.....	20
4 – RESULTADOS.....	23
5 – DISCUSSÃO.....	30
6 – CONCLUSÕES.....	44
7 - REFERÊNCIAS.....	45
NORMAS ADOTADAS.....	55
APÊNDICES .....	56
ANEXOS .....	65

## LISTA DE ABREVIATURAS

- AAP – Academia Americana de Pediatria  
ACOG – Colégio Americano de Ginecologia e Obstetrícia  
AU – Artéria umbilical  
BE – excesso de bases  
EEG – Eletroencefalografia  
EHI – Encefalopatia hipóxico-isquêmica  
EN – Encefalopatia neonatal  
FCF – Frequência cardíaca fetal  
LAM – Líquido amniótico meconial  
LCR – Líquido cefalorraquidiano  
MCF – Monitorização cardíaca fetal  
MDV – Maternidade Darci Vargas  
MN – Meningite neonatal  
PL – Punção lombar  
RN – Recém-nascido  
RNs – Recém-nascidos  
RNT – Recém-nascido a termo  
RNPT – Recém-nascido prematuro  
SGOC – Sociedade de Ginecologia e Obstetrícia do Canadá  
SHI – Síndrome hipóxico-isquêmico  
SNC – Sistema nervoso central  
VPP – Ventilação com pressão positiva

## LISTA DE TABELAS E FIGURAS

página

<b>Tabela 1</b> - Características dos RNs, nos grupos de RNs asfixiados e controle.....	23
<b>Tabela 2</b> - Características da população de mães, nos grupos de RNs asfixiados e controle.....	24
<b>Tabela 3</b> - Presença dos critérios para o diagnóstico de asfixia no grupo de RNs asfixiados.....	25
<b>Tabela 4</b> - Resultado dos exames de tomografia de crânio e eletroencefalograma, no grupo de RN asfixiados.....	26
<b>Tabela 5</b> - Classificação dos RNs asfixiados, quanto à gravidade e evolução para óbito...26	
<b>Tabela 6</b> - Valores do LCR dos RNs asfixiados e grupo controle.....	27
<b>Tabela 7</b> - Relação glicorraquia/glicemia, nos grupos de RNs asfixiados e controle.....	28
<b>Tabela 8</b> - Análise estatística das variáveis em estudo no LCR, nos grupos de RNs asfixiados e controle, para determinação da probabilidade de significância estatística.....	29
<b>Tabela 9 - Apêndice V</b> - Comparação dos resultados da citometria total e diferencial, entre o presente estudo e outras pesquisas que utilizaram RNT sadios.....	62
<b>Tabela 10 - Apêndice VI</b> - Valores normais de glicorraquia, em RN sadios, segundo diversos autores.....	63
<b>Tabela 11 - Apêndice VII</b> - Comparação dos valores médios da proteinorraquia entre os dois grupos do presente estudo, e outras pesquisas que utilizaram RNT sadios.....	64
<b>Tabela 12 - Anexo III</b> - Resultados encontrados por várias pesquisas, dos principais parâmetros líquóricos.....	70
<b>Tabela 13 - Anexo IV</b> - Citações utilizadas como padrão de normalidade para LCR de RN, por diversos livros textos de neurologia neonatal, neonatologia, neurologia e pediatria.....	71
<b>Tabela 14 - Anexo V</b> - Valores normais de proteinorraquia, em RN sadios, conforme variação de idade, segundo diversos autores.....	72
<b>Tabela 15 - Anexo VI</b> - Relação de diversas pesquisas com coleta de LCR em RN asfixiados a termo, demonstrando o tempo necessário para obtenção da amostra.....	73
<b>Figura 1</b> - Análise fatorial pelos componentes principais dos dois grupos.....	28

## RESUMO

**OBJETIVOS:** Descrever as características do líquido cefalorraquidiano (análise bioquímica – proteína e glicose, e citometria) em recém-nascidos que apresentaram asfixia perinatal, e comparar com um grupo controle de recém-nascidos não asfixiados. **MÉTODO:** Estudo caso-controle, realizado de agosto de 2004 a dezembro de 2005, na Maternidade Darci Vargas, Joinville, SC, incluindo dois grupos de recém-nascidos a termo: um com sete RNs com diagnóstico de asfixia perinatal, e um grupo controle formado por sete recém-nascidos sem evidência de asfixia ao nascer. Dos dois grupos foram coletados líquido através de punção lombar nas primeiras 48 h de vida para a determinação da contagem total e específica de células, proteína e glicorraquia. **RESULTADOS:** Os grupos foram similares quanto aos dados antropométricos, idade gestacional e características maternas. A contagem média de leucócitos no grupo de asfixiados foi de 2.28 células/mm<sup>3</sup>, e 4.14 células/mm<sup>3</sup> no grupo controle. A glicorraquia média encontrada no grupo de asfixiados foi 55.57 mg/dl e 37.57 mg/dl no grupo controle. Encontrou-se diferença significativamente mais baixa ( p = 0,0087) nos valores médios de proteinorraquia no grupo de recém-nascidos asfixiados (47.57mg/dl) quando comparados com o grupo controle (88.57mg/dl). **CONCLUSÃO:** A asfixia não demonstrou ser um fator determinante para que pudesse ocorrer diferença no número de leucócitos e glicorraquia, não sendo encontrada diferença significativa na comparação entre os dois grupos. Apesar das taxas de proteínas encontradas revelarem uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos, serão necessários estudos futuros com um número maior de casos para confirmar estes achados.

## ABSTRACT

**OBJECTIVE:** To describe cerebral-spinal fluid (CSF) features in neonates after moderate and severe birth asphyxia, and compare with a normal control group. These features include biochemistry analysis (protein and glucose) and leukocyte (global and specific) count.

**METHODS:** This case-control study was performed from August /2004 to December/2005, at the Darci Vargas Maternity Hospital in Joinville, Brazil. The study group was composed of full term newborns who fulfilled the birth asphyxia criteria (n=7). The control-group was design with full term newborn with no evidence of asphyxia (n=7). The CSF was obtained prior to 48 hours of life from both groups.

**RESULTS:** The two groups were matched by anthropometric data, gestational age and maternal risks. The asphyxiated group was classified according to the severity of the insult from moderate (4/7) to severe stage (2/7). Leukocyte count was 2. 28 cells/mm<sup>3</sup> in the asphyxiated group and was 4.14 cells/mm<sup>3</sup> in the control group. The mean value of glucose was 55.57 mg/dl in the asphyxiated group and 37.57 mg/dl in the control group. Protein content values was lower (47.57mg/dl) in the asphyxiated group than in the control group (88.57mg/dl) (p = 0.0087).

**CONCLUSION:** Birth asphyxia did not appear to interfere in the CSF cell count and glucose content. Although the protein value revealed a statistically significant difference between the groups, future studies including higher number of cases will be necessary to reassure this finding.

# 1. INTRODUÇÃO

A asfixia perinatal ainda representa um dos maiores desafios nos cuidados intensivos neonatais, apesar do avanço tecnológico das unidades de terapia intensiva e de estudos esclarecendo a fisiopatologia desta condição. É a maior causa de morbidade neurológica, tanto em prematuros quanto em recém-nascidos a termo<sup>1</sup>.

Desde que LITTLE em 1862 e FREUD<sup>2,3</sup> alguns anos mais tarde fizeram pela primeira vez a correlação entre problemas do parto e o comprometimento do desenvolvimento neurológico, muitos avanços ocorreram, porém permanecem os mesmos tipos de seqüelas neurológicas, que estão relacionadas a uma variedade de déficits motores, principalmente espasticidade, distonia, coreo-atetose e ataxia. Estes déficits são geralmente agrupados e denominados Paralisia Cerebral e freqüentemente estão acompanhados de deficiência mental, convulsões e transtornos comportamentais<sup>4,5,6</sup>.

A freqüência da Paralisia Cerebral, secundária à asfixia perinatal, permanece praticamente a mesma nas últimas duas décadas. Dados epidemiológicos sugerem uma incidência de paralisia cerebral de 2-3/1000 recém-nascidos (RNs)<sup>7,8</sup>. A incidência de asfixia é superior a 20/1000 recém-nascidos a termo, e pode chegar a cerca de 60% nos prematuros de baixo peso ao nascer<sup>9,10</sup>. A incidência de encefalopatia neonatal, atribuída exclusivamente à hipóxia intraparto, é estimada em aproximadamente 1,6 por 10.000 nascidos vivos<sup>7,11</sup>. Entre 20 e 50% dos RNs asfixiados apresentarão sinais clínicos de encefalopatia neonatal, e dos sobreviventes, aproximadamente 25% terão seqüelas neurológicas permanentes<sup>7,8,10,12,13,14</sup>.

CARTER<sup>15</sup> chama a atenção para o fato de que grande parte dos artigos ajuda pouco a esclarecer a confusão gerada pela incorreta crença de que hipóxia, acidose, isquemia, baixos índices de Apgar e asfixia poderiam ser sinônimos, ou ainda nos conceitos de síndrome hipóxico-isquêmica (SHI), asfixia perinatal e encefalopatia hipóxico-isquêmica (EHI)<sup>16,17</sup>. Vários autores enfatizam a necessidade de utilizar-se o termo EHI, apenas quando há evidências clínicas e laboratoriais suficientes da etiologia ser atribuída à hipóxia / isquemia (ou asfixia), e sugerem que o termo Encefalopatia Neonatal deve ser empregado sempre quando houver uma síndrome com comprometimento neurológico clinicamente bem definido, quase que invariavelmente em RNs a termo<sup>6,18-20</sup>. Nesta pesquisa, utilizam-se as seguintes definições e conceitos:

## **Síndrome Hipóxico-isquêmica (SHI)**

Doença multissistêmica com acometimento generalizado, decorrente de uma hipoperfusão tecidual significativa e diminuição da oferta de oxigênio<sup>21</sup>.

### **Asfixia Perinatal**

É a condição que ocorre quando a troca de gases pulmonares ou placentárias é interrompida, levando a uma progressiva hipoxemia, que é grave o suficiente para desenvolver acidose<sup>10, 11</sup>. A definição de asfixia pode ser inferida tomando como base os marcadores clínicos indiretos (baixo Apgar, acidose em sangue de cordão, ou sinais clínicos no neonato de encefalopatia neonatal), ou ainda, do ponto de vista fisiopatológico, a asfixia é a condição na qual o cérebro é submetido não somente à hipóxia, mas também a isquemia e hipercarbica, que resulta em outros numerosos efeitos metabólicos (acidose) e fisiológicos (aumento inicial no fluxo sanguíneo)<sup>10, 15, 20, 22, 23</sup>. Se puder ser definido o momento do insulto, deverá então ser descrito como fetal ou pré-natal, intraparto, ou neonatal. O termo asfixia perinatal, deverá ser utilizado quando o momento exato do insulto é incerto<sup>20</sup>. A Academia Americana de Pediatria<sup>24</sup> reserva o termo asfixia para pacientes que preencham os seguintes critérios:

1. Acidemia metabólica ou mista profunda (pH < 7.0) em sangue arterial do cordão umbilical;
2. Escore de Apgar de 0-3 por mais de 5 minutos;
3. Manifestações neurológicas neonatais;
4. Disfunção orgânica multissistêmica.

### **Encefalopatia hipóxico-isquêmica (EHI)**

Denomina-se EHI a consequência neurológica clínica, decorrente da asfixia perinatal<sup>16, 17</sup>. Além dos exames complementares (parâmetros metabólicos, eletroencefalograma, ultrasonografia, tomografia ou ressonância magnética de crânio), VOLPE<sup>23</sup> considera que a ocorrência de um Síndrome Neurológico Neonatal (SNN) que acompanha a asfixia é uma condição *sine qua non* para que se possa atribuir as lesões cerebrais subsequentes ao insulto intraparto. Considera ainda que três características são necessárias para que se possa definir a existência de EHI: evidência de sofrimento fetal (alteração na frequência cardíaca, líquido amniótico meconial), depressão ao nascer e presença do SNN nas primeiras horas ou dias de vida. Prefere-se o termo *hipóxico-isquêmico* porque o significado e extensão de cada insulto individualmente (hipóxia e / ou isquemia) são difíceis definir precisamente<sup>21, 25, 26</sup>.

## **Encefalopatia neonatal (EN)**

É uma síndrome clinicamente definida pelo distúrbio do funcionamento neurológico nos primeiros dias de vida do RN a termo. Caracterizada por alterações da função cortical (letargia, estupor, com ou sem convulsão), funções do tronco (alterações de nervo craniano e pupilar), alteração do tônus e reflexos<sup>6, 10, 17, 19, 20</sup>.

## **Hipóxia**

Diminuição da quantidade de oxigênio no sangue. Hipóxia/anóxia denotam uma parcial ou completa – respectivamente, ausência de oxigênio em um ou mais tecidos do corpo, inclusive no sangue (hipoxemia/anoxemia)<sup>10, 21</sup>.

## **Isquemia**

Diminuição da quantidade de sangue perfundindo um tecido, devido à obstrução arterial ou hipoperfusão sistêmica. Ocorre freqüentemente em conjunto com hipóxia. A isquemia prolongada nos tecidos cerebrais está associada com infarto cerebral<sup>10, 21</sup>.

O mecanismo básico das lesões neurológicas e sistêmicas é a asfixia, uma combinação da hipoxemia, com diminuição da perfusão tecidual e posterior reperfusão. São descritos cinco mecanismos principais da asfixia<sup>15</sup>:

1. Interrupção do fluxo sangüíneo umbilical (compressão do cordão umbilical);
2. Troca de gases inadequada pela placenta (descolamento, placenta prévia, insuficiência placentária);
3. Perfusão placentária inadequada do lado materno (hipotensão materna, contrações uterinas anormais, doença cardiopulmonar ou anemia materna);
4. Feto comprometido que não tolera o estresse do trabalho de parto (retardo de crescimento intra-uterino, infecções congênicas intra-útero);
5. Falha do RN em inflar o pulmão ou uma inadequada transição da circulação cardiopulmonar fetal para neonatal.

Os eventos iniciais no desenvolvimento da asfixia devem-se a diminuição de oxigênio na circulação arterial do feto (hipoxemia) e a um acúmulo de dióxido de carbono (hipercarbia). Estes eventos se desenvolvem naturalmente, durante a contração uterina normal de um trabalho de parto. O grande desafio é definir qual o *limiar de asfixia* que irá resultar em lesão cerebral<sup>13, 27</sup>.

O recém-nascido a termo tem maior possibilidade de desenvolver estratégias adaptativas para combater a hipóxia, enquanto o cérebro prematuro ainda está desenvolvendo a diferenciação neuronal e possui uma aumentada vulnerabilidade vascular em certas áreas cerebrais, especialmente a substância branca periventricular<sup>1, 28</sup>.



O aporte insuficiente de O<sub>2</sub> em nível celular acarretará uma diminuição da produção e síntese de ATP (trifosfato de adenosina), que acarreta um funcionamento inadequado das bombas de trocas na membrana celular, com alteração do gradiente iônico. Com a posterior reperfusão, ocorre restabelecimento de O<sub>2</sub> na mitocôndria, desta vez, com formação excessiva de substâncias oxidantes, que acarretará lesão tecidual<sup>21, 23, 29</sup>.

A reperfusão pós-isquemia também induz uma resposta local inflamatória e citotóxica, ativando leucócitos e estimulando o endotélio dos vasos a produzirem citocinas proinflamatórias (interleucinas IL-1, IL-6 e fator de necrose tumoral). O aumento da produção de radicais livres, óxido nítrico, lipídios bioativos e seus mediadores (ácido aracídico, prostaglandinas, leucotrienos, tromboxane e fator ativador plaquetário) também desempenham papel importante nesta cascata de eventos bioquímico em nível celular<sup>29-34</sup>, além do importante e fundamental envolvimento e ativação de neurotransmissores cerebrais. Glutamato, o principal aminoácido excitatório, que é citotóxico para as células neuronais, é acumulado no compartimento extracelular e sua recaptação está comprometida pela produção de radicais livre, fazendo com que seus receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) e AMPA (amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazole ácido propiônico) liberem os canais permitindo a excessiva entrada de cálcio nas células neuronais, sendo o acúmulo de cálcio citosólico o principal fator causador da morte celular<sup>1, 21, 29, 35</sup>.

A topografia das lesões tende a ser focal ou regional, apesar da hipoperfusão cerebral aguda ser tipicamente generalizada<sup>13</sup>. As características neuropatológicas variam consideravelmente conforme a idade gestacional, a natureza e intensidade do insulto ou tipo de intervenção, e os principais tipos neuropatológicos que se observam são: necrose neuronal seletiva, *status marmoratus*, lesão cerebral parassagital, leucomalácia periventricular e necrose cerebral focal ou multifocal<sup>23, 36</sup>.

São vários os critérios que se utilizam para o diagnóstico da asfixia perinatal. Atualmente mais rigorosos, e levando em conta aspectos clínicos, bioquímicos e fisiopatológicos. Para um diagnóstico correto há necessidade que haja uma adequada história clínica, um minucioso exame neurológico e parâmetros laboratoriais bioquímicos ou metabólicos, e ainda evidência de sofrimento fetal intraparto por meio da monitorização cardíaca fetal ou da presença de líquido amniótico meconial, exames de neuroimagem e eletroencefalografia<sup>5, 10, 13, 15, 19, 23, 25, 30, 37, 38</sup>.

Muitos marcadores bioquímicos podem detectar a ocorrência da asfixia como lactato sérico ou liquórico, hipoxantina, creatinofosfoquinase, beta-2 microglobulina, creatino-encéfalo específica (CK-BB) ou estudo da acidemia com pH de sangue de cordão umbilical ou sérico nas primeiras horas de vida<sup>1, 15, 39-44</sup>. Estudos mais recentes procuram definir outros marcadores, que

poderiam além de ser úteis no diagnóstico precoce e preciso da asfixia perinatal e conseqüente da EHI, também teriam importância no prognóstico, como *Activin A*<sup>31</sup>, atividades das enzimas antioxidantes<sup>45</sup>, citocinas pró-inflamatórias<sup>29,32</sup>, monofosfato de adenosina (cAMP), tromboxane A<sub>2</sub> e prostaciclina (PGI<sub>2</sub>)<sup>46</sup>, enolase neuro-específica<sup>47, 48</sup> ou outras proteínas cerebrais específicas<sup>49,50</sup>.

Em 1999, com uma revisão em 2003, um grupo de especialistas de diversas sociedades médicas internacionais de obstetrícia, pediatria e neonatologia, criaram uma força-tarefa - *The International Cerebral Palsy Task Force*, estabelecendo e publicando conceitos, terminologias e critérios diagnósticos necessários para que se pudesse definir uma relação causal entre a hipóxia aguda intraparto e a paralisia cerebral<sup>7, 20</sup>. Estes critérios recomendados estão relacionados abaixo:

**Critérios essenciais:** (os quatro devem estar presentes )

1. Acidose metabólica: pH artéria umbilical (AU) ou arterial periférico pós-natal imediato (primeiros 60 minutos de vida), com pH < 7,0 e BE ≥ -12mmol/l;
2. Encefalopatia Neonatal moderada ou grave de início precoce em RN acima de 34 semanas de idade gestacional;
3. Paralisia Cerebral do tipo tetraplégica espástica ou tipo distônica;
4. Exclusão de outras etiologias identificáveis, como trauma, distúrbio da coagulação, infecção ou distúrbios metabólicos ou genéticos;

**Critérios adicionais, que juntos sugerem o insulto hipóxico ocorreu no momento do parto, mas isolados não são específicos:**

1. Um sinal sentinela de um evento hipóxico ocorrendo imediatamente antes ou durante o trabalho de parto (ruptura uterina, descolamento da placenta, prolapso de cordão umbilical);
2. Alteração da frequência cardíaca fetal (FCF);
3. Apgar de 0 a 3 nos primeiros 5 minutos de vida;
4. Evidência de disfunção de múltiplos órgãos;
5. Neuroimagem pós-natal com evidência de alteração cerebral aguda.

De todos os critérios estabelecidos, cinco são fundamentais, e aparecem associados, em praticamente todos os estudos: acidemia, monitorização cardíaca fetal, índice de apgar, manifestações neurológicas e disfunção de múltiplos órgãos<sup>51</sup>.

Além destes critérios, VOLPE e VANUCCI preconizam punção lombar (PL) para todos os RNs asfixiados. O estudo do líquido cefalorraquidiano (LCR) forneceria informações valiosas

que contribuiriam para avaliação diagnóstica e prognóstica<sup>10, 23</sup>. A investigação líquórica ainda afastaria a possibilidade de outros diagnósticos, como a meningite neonatal, que pode mimetizar clinicamente a encefalopatia hipóxico-isquêmica.

Desde as primeiras publicações sobre os achados líquóricos inúmeros artigos foram publicados com o objetivo de definir o padrão de normalidade para as características bioquímicas e celulares do LCR dos RNs<sup>52, 53, 54</sup>. Porém, diferenças metodológicas entre as pesquisas, como o tempo de vida no momento da coleta do líquido, os critérios de inclusão, ou ainda o número de casos de cada pesquisa deixam algumas dúvidas. Qual o *padrão de normalidade* que deve ser adotado para recém-nascido?

Utilizando-se os resultados de alguns dos estudos mais citados na literatura como padrão de normalidade para o LCR dos RNs, observa-se que o número de leucócitos considerado normal variou de 0 até 130 células/mm<sup>3</sup>, no grupo de RNs a termo, ocorrendo a mesma variação ampla para os índices de proteinorraquia e glicorraquia. Mais ampla variação pôde ser observada nos valores da proteinorraquia (65 a 370mg/dl) e glicorraquia (24 a 217 mg/dl) nos prematuros<sup>55-60</sup> (Anexo III – Tabela 12).

Quais diferenças devem ser valorizadas entre RNT e PT? Há diferença entre idades dentro do período neonatal (0-28dias)? Como valorizar a presença de hemácias? Infecção perinatal sistêmica modifica o LCR? A asfixia perinatal modifica os achados bioquímicos e celulares do LCR? Quais os melhores marcadores bioquímicos?

Apesar das dificuldades que se possa ter para a interpretação dos resultados do LCR no período neonatal, deve-se analisar o conjunto dos parâmetros líquóricos, e esta análise deve estar focada no quadro clínico do RN. Meningite bacteriana em recém-nascidos frequentemente tem uma evolução ruim, apresenta-se particularmente grave em RNPT e de baixo peso, porém pode ter seu curso influenciado pela terapêutica adequada<sup>23, 61</sup>. A incidência de meningite neonatal (MN) varia de 0,22 a 2,66/1000 nascidos vivos, com taxas de mortalidade de até 30 %<sup>62</sup>. O diagnóstico precoce é fundamental para o prognóstico, porém a MN apresenta poucos sinais e sintomas neurológicos na fase inicial, com um quadro clínico inespecífico, que poderia sugerir alguma outra infecção perinatal ou mesmo distúrbio metabólico, respiratório ou sepse<sup>62-66</sup>.

BONADIO<sup>67</sup> fez análise do perfil líquórico de RNs com MN em treze estudos diferentes, e encontrou uma ampla variação nos resultados. A contagem total de células brancas variou de 1975 a 10.987 células/mm<sup>3</sup>, proteinorraquia de 130 a 299 mg/dl e glicorraquia de 19 a 30 mg/dl. No Brasil, SILVA RAMOS<sup>65</sup> estudando 109 casos de MN durante 10 anos, encontrou contagem total de leucócitos que variou de 33 a 78.000 células por mm<sup>3</sup> (com média de 4.839

células/mm<sup>3</sup>), proteinorraquia variou de 106 a 3280 mg/dl (média 627mg/dl) e glicorraquia média de 56mg/dl (variação de 4 a 300mg/dl).

As pesquisas que definem os valores de referência para o padrão de normalidade do LCR, foram todas realizadas a partir da coleta em crianças saudáveis<sup>39, 55, 56, 68</sup>. Outras dúvidas são levantadas quando estamos diante de uma criança com doença sistêmica (infecciosa ou não). Podem estas doenças modificar por si só o padrão liquórico? CARRACCIO e colaboradores<sup>69</sup> analisaram o LCR de 345 crianças (95 menores de um mês, com possível sepse; 155 maiores de um mês, também com suspeita de sepse; 51 com infecção em local contíguo ao sistema nervoso central (SNC); e 45 com crise convulsiva e febre), das quais nenhuma recebeu o diagnóstico de meningite, e seus resultados mostraram que a percentagem de neutrófilos encontrada, foi significativamente maior no grupo de crianças com doença sistêmica e sem meningite quando comparado ao padrão utilizado como referência de normalidade.

Cerca de 40 % dos RNs admitidos nas unidades de cuidados intensivos neonatais são submetidos a PL para coleta de LCR<sup>66</sup>. Na grande maioria dos casos, a PL é realizada quando há suspeita clínica de infecção do SNC. Uma interpretação acurada do perfil liquórico é baseada nos conhecimentos da fisiologia do LCR e associação com processos patológicos específicos<sup>67</sup>. As dificuldades existentes em interpretar um LCR normal ou o líquido com suspeita de meningite neonatal (MN), serão ainda maiores diante de um líquido de um RN asfíxiado, que pouco se conhece sobre suas características quanto a citometria e análise bioquímica convencional. Acredita-se que a barreira hemato-encefálica é menos efetiva em RNs que em crianças maiores ou adultos, e que a permeabilidade desta barreira estará alterada em condições de estresse, como hipóxia ou acidose<sup>70, 71, 72</sup>. Além disso, é especialmente difícil definir clinicamente quais destes RNs que sofreram asfíxia ao nascer, e estão evoluindo com sintomatologia neurológica própria do evento hipóxico-isquêmico, deveriam ser submetidos a PL. E, uma vez coletado o LCR, como interpretar e valorizar as alterações encontradas?

Muitos estudos identificam marcadores bioquímicos no líquido ou sangue, que servem como parâmetros para o diagnóstico ou prognóstico da asfíxia perinatal como lactato, relação lactato/piruvato, xantina e hipoxantina, citocinas próinflamatórias, fração específica cerebral da creatinoquinase (CK-BB), proteínas cerebrais específicas (proteína ácida dos filamentos da glia), enzimas específicas do citoplasma (enolase-encéfalo específica), entre outros<sup>11, 21, 25, 32, 33, 43, 45, 47, 49, 50, 73 - 77</sup>. Porém, a maioria destes marcadores é cara e estão somente disponíveis em centros de referência ou de pesquisa, especialmente nos países desenvolvidos.

Tomando-se como exemplo a dosagem sérica ou liquórica do lactato, que é um exame de custo reduzido, quando comparado a outros parâmetros bioquímicos, cerca de nove reais por

exame, e é um dos parâmetros indicados para o diagnóstico da asfixia perinatal<sup>32, 42, 78</sup>, encontram-se dificuldades técnicas para sua realização rotineira, tanto do ponto de vista da coleta do sangue do cordão umbilical ao nascimento, quanto da realização pelos laboratórios. Nas principais maternidades públicas das oito maiores cidades do nosso estado (Florianópolis, Joinville, Blumenau, São José, Criciúma, Lages, Itajaí e Chapecó) somente em três maternidades são feitas a dosagem de lactato pelos seus laboratórios de análises clínicas, sem que seja feita uma solicitação especial, ou tenha que ser terceirizado o serviço para um laboratório de apoio (informação pessoal).

Durante a realização desta pesquisa, não foi encontrada nenhuma publicação que defina qual o padrão bioquímico e citométrico do LCR em RN asfixiados. A análise bioquímica convencional e rotineira, ou seja, a dosagem da glicorraquia e proteinorraquia, bem como a contagem celular total e específica poderia estar alterada, sendo que este é um exame de fácil execução, de baixo custo e realizado por qualquer laboratório.

Existe um padrão diferente nos achados bioquímicos e celulares do líquido dos recém-nascidos asfixiados? E se existir, estes achados podem contribuir para o diagnóstico ou prognóstico da asfixia perinatal? Poderiam auxiliar no diagnóstico diferencial entre as meningites neonatais de RNs com ou sem asfixia perinatal?

## **2. OBJETIVOS**

### **Objetivo Geral**

Descrever os achados bioquímicos (glicorraquia e proteinorraquia) e celulares (citometria total e diferencial) do líquido cefalorraquidiano nos RNs que apresentaram asfixia perinatal, nascidos na Maternidade Darci Vargas, Joinville, SC, e comparar com um grupo-controle de recém-nascidos não asfixiados.

### **Objetivos Específicos**

1. Descrever o perfil da população estudada;
2. Identificar a homogeneidade nos dois grupos;
3. Identificar se existe um padrão diferente daqueles citados como valores de referência de normalidade para o líquido de RNs não asfixiados
4. Identificar a relevância do líquido no diagnóstico da asfixia perinatal.

### 3. MÉTODO

Trata-se de um estudo caso-controle, realizado no setor de neonatologia da Maternidade Darci Vargas de Joinville, SC, durante o período de agosto de 2004 a dezembro de 2005, incluindo todos os recém-nascidos a termo, com diagnóstico de asfixia perinatal.

**Seleção dos pacientes** - Os casos foram selecionados de acordo com os critérios de inclusão / exclusão listados a seguir. Foram incluídos no estudo recém-nascidos a termo, que tiveram líquido coletado através de punção lombar, dentro das primeiras 48 horas de vida, e que apresentaram evidências de asfixia perinatal. Para o diagnóstico de asfixia perinatal, os RNs deveriam ter pelo menos cinco critérios relacionados abaixo, sendo os três primeiros obrigatórios, conforme uma associação de critérios recomendados pela Academia Americana de Pediatria (AAP), Colégio Americano de Obstetrícia e Ginecologia (ACOG), Sociedade Canadense de Obstetrícia e Ginecologia (SCOG) e Consenso Internacional<sup>17, 20, 24, 79</sup>:

- a) índice de Apgar menor que seis no 5º. minuto de vida;
- b) acidemia, com pH abaixo de 7.20, e/ou excesso de bases maior ou igual a - 12mEq/L - colhido do sangue arterial periférico, logo após o nascimento (dentro dos primeiros 60 minutos de vida);
- c) presença de síndrome neurológica neonatal nas primeiras horas ou dias de vida, conforme definida por VOLPE<sup>23</sup>;
- d) evidência de sofrimento fetal intraparto (cardiotocografia anormal e/ou líquido amniótico meconial);
- e) lactato do sangue do cordão umbilical superior a 3,0 mmol/L;
- f) necessidade de ventilação com pressão positiva ao nascer;
- g) alterações eletroencefalográficas ou neuroimagem, sugestivas de encefalopatia hipóxico-isquêmica.

Foram excluídos os RNs asfixiados, que: a) apresentavam alguma evidência de hemorragia intracraniana por ultra-som transfontanelar ou tomografia de crânio, ou ainda líquido hemorrágico por acidente de punção, com contagem total de hemácias acima de 500 hemácias/mm<sup>3</sup>; b) líquido com bacterioscopia ou cultura positiva; c) RN com evidência clínica ou laboratorial de infecção congênita intra-útero; d) presença de sepse ou meningite; e) uso de drogas pela mãe ou medicação intraparto depressora do sistema nervoso central; f) presença de malformações cerebrais detectadas por tomografia de crânio.

**Grupo controle** - Foi formado um grupo controle, para comparação dos resultados do LCR. Este grupo foi formado por recém-nascidos a termo, nascidos na mesma Maternidade, durante o período desta pesquisa, que foram submetidos à punção lombar pelo pediatra neonatologista assistente por suspeita de infecção do SNC ou sepse, ou por alguma outra indicação definida por ele, que não sofreram asfixia ao nascer (Apgar no primeiro minuto maior que sete), e que o resultado do LCR tenha sido normal, ou seja, tenha sido excluída a presença de infecção do SNC.

O protocolo de avaliação clínica e neurológica, dos RNs e das mães encontram-se anexos (Apêndices I, II e III). Os pacientes foram examinados durante a fase aguda e depois semanalmente até a alta hospitalar. O exame neurológico foi efetuado pelo mesmo neurologista pediátrico, assim como todas as punções lombares para coleta do líquido cefalorraquiano. Os recém-nascidos foram classificados de acordo com os estágios de gravidade da encefalopatia neonatal, estabelecido por SARNAT e SARNAT<sup>80</sup>, conforme se apresentavam clinicamente no momento da coleta do líquido.

**Exames complementares** – a) Eletroencefalograma - todos os recém-nascidos foram submetidos a um exame de eletroencefalograma na fase aguda, e foram repetidos quando houve necessidade; b) todos os pacientes realizaram tomografia de crânio; c) parâmetros metabólicos: dosagem sérica de eletrólitos – sódio, potássio, cálcio, creatinina, glicemia, creatinofosfoquinase, gasometria arterial coletada através de punção arterial periférica, nos primeiros 60 minutos de vida; e dosagem de lactato, coletado a partir do fluxo livre do sangue misto do cordão, venoso e arterial, imediatamente após o parto e antes do pinçamento do cordão pelo obstetra.

**Coleta do LCR** - Foram coletados 1-2 ml de líquido por punção lombar, entre as vértebras lombares L3-L4, ou L4-L5, com agulha do tipo *Butterfly*, com o RN em decúbito



lateral, com anteflexão forçada da cabeça e contensão dos membros inferiores em flexão máxima, conforme técnicas padronizadas<sup>81, 82</sup>. Todos os RNs foram puncionados pelo pesquisador principal deste estudo. Os pacientes foram puncionados por ocasião do diagnóstico, dentro das primeiras 48 horas de vida, na dependência das condições clínicas do recém-nascido.

O material coletado foi enviado ao laboratório de análises clínicas da Maternidade Darci Vargas. Em todas as amostras de LCR foram determinadas citometria total e diferencial, contagem de hemácias, glicose, proteínas totais, bacterioscopia e cultura. A citometria foi feita em câmara de Fuchs-Rosenthal, onde foi contado o número de leucócitos e hemácias, e observado a presença de bactérias *in vivo*. Glicose: foi utilizado método enzimático, por automação em equipamento marca Winner Mod. Airone 200. Proteínas: por precipitação em ácido sulfossalicílico a 3%, lido em espectrofotômetro em comprimento de onda de 620 nm. Bacterioscopia: após a leitura do líquido em câmara, centrifugou-se o mesmo, e foi feito um esfregaço com o precipitado sobre uma lâmina e corando-a pela técnica de Gram. Cultura: inoculou-se parte do líquido coletado em meio de cultura próprio do equipamento Bactec 9050BD<sup>83</sup>.

O projeto desta pesquisa foi submetido à análise e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina – Protocolo n. 332/04, e pela Comissão de Ética da Maternidade Darci Vargas, Joinville (SC) - Ofício n. 1267/02 (Anexo I e II). Os responsáveis pelos recém-nascidos concordaram em participar desta pesquisa, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndices IV)

**Análise estatística** - A base de dados criada no programa Excel<sup>®</sup> (*Office 2000*) foi submetida à análise estatística, utilizando o programa STATISTICA 6.0<sup>®</sup> (STATSOFT)<sup>84</sup>.

Utilizaram-se medidas descritivas, procedimento estatístico multivariado (análise fatorial), ANOVA - teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Adotou-se um nível de significância de  $\alpha = 0,05$ .

## 4. RESULTADOS

Foram estudados 14 recém-nascidos, que formaram dois grupos: um grupo composto de sete RNs que sofreram asfixia ao nascer e um segundo grupo, também com sete RNs a termo, não asfixiados, que formaram o grupo controle. Todos os casos estudados preencheram os critérios de inclusão definidos na metodologia desta pesquisa. A coleta de dados foi realizada no período de agosto de 2004 a dezembro de 2005. Na tabela a seguir, observam-se as características da população dos RNs estudados nos dois grupos.

**TABELA 1.** Características dos RNs, dos grupos de RNs asfixiados e controle. Maternidade Darci Vargas, Joinville (SC), 2004/2005.

CARACTERÍSTICA	ASFIXIADOS n = 7	CONTROLE n = 7
Sexo	4M/3F	4M/3F
Peso de nascimento - em gramas		
Média	3298	3275
Desvio padrão	649	574
AIG	5/7	5/7
GIG	1/7	1/7
PIG	1/7	1/7
Estatura – em centímetros		
Média	49,42	49,00
Desvio padrão	2,76	2,30
Perímetro Cefálico – em centímetros		
Média	34,64	34,28
Desvio padrão	1,93	1,38
Idade Gestacional (semanas, dias)		
Média	38s6d	39s
Variação	37s5d-41s1d	37s6d-40s
Apgar 1°.min		
Média	1,71	7,71
Variação	1-3	7-9
Apgar 5°.min		
Média	4,28	9,00
Variação	1-5	8-10
Tempo de vida no momento da PL, para coleta do líquido		
Média		
Variação	28hs 5h-48h	31hs 7-48h
Glicemia (em mg/dl) – coleta no momento da PL		
Média		
Mediana	122,85	49,57
Desvio padrão	86,00	50,00
Variação	101,27 21-328	27,77 13-93

M: Masculino; F: feminino; DP: desvio padrão; s: semanas; d: dias; AIG: adequado para idade gestacional; GIG: grande para a idade gestacional; PIG: pequeno para a idade gestacional.

A indicação de PL para coleta do líquido no grupo controle, deveu-se a: cinco casos por suspeita clínica de infecção perinatal (não confirmadas) e dois casos por hipotonia, hipoatividade e gemência do RN, sem causa identificada. Na tabela 2, as características maternas nos dois grupos.

**TABELA 2.** Características da população de mães, nos grupos de RNs asfixiados e controle. Maternidade Darci Vargas, Joinville (SC), 2004/2005.

<b>CARACTERÍSTICA</b>	<b>ASFIXIADOS n = 7</b>	<b>CONTROLES n = 7</b>
Idade Materna (anos)		
Média	26,57	23,42
Desvio padrão	6,07	4,57
Variação	19-36	15-29
Número de consultas pré-natal		
Média	6,42	6,57
Desvio padrão	2,37	3,25
Variação	2-9	2-12
Tipo de parto		
Vaginal	1/7	7/7
Vaginal c/ fórceps	1/7	0/7
Cesariana	5/7	0/7
Número de abortos em gestações anteriores	0/7	0/7
Complicações na gestação		
Tabagismo, Etilismo, Drogadição, HAS	0/7	0/7
Diabetes	0/7	1/7
DHEG	1/7	0/7
Anemia	2/7	0/7
ITU	2/7	2/7

HAS: hipertensão arterial sistêmica; ITU: infecção do trato urinário; DHEG: Doença hipertensiva específica da gravidez.

Na tabela a seguir estão relacionados nos casos do grupo de RNs asfixiados as características presentes para os critérios diagnósticos de asfixia.

**TABELA 3.** Presença dos critérios para o diagnóstico de asfixia no grupo de RNs asfixiados. Maternidade Darci Vargas, Joinville (SC), 2004/2005.

<b>CARACTERÍSTICA</b>	<b>Grupo asfixiados n = 7</b>
<b>Apgar (média e variação)</b>	
1°.min	1,71 (1-3)
5°.min	4,28 (1-5)
<b>Síndrome Neurológico Neonatal</b>	7/7
1as. 12 hs de vida	2/7
12-24 hs de vida	4/7
24-72hs de vida	0/7
Após 72 hs de vida	1/7
<b>Acidemia</b>	
pH	
Média	7,19
Desvio padrão	0,20
Variação	6,78-7,35
BE (em mEq/L)	
Média	-14,9
Desvio padrão	5,80
Variação	-21,6 a -5,8
Lactato (5/7) – em mmol/L	
Média	11,16
Desvio padrão	2,99
Variação	6,6-14
<b>Evidência de sofrimento fetal intraparto</b>	
Alteração da FCF	7/7
Líquido amniótico meconial	4/7
<b>Necessidade de VPP</b>	7/7

FCF: Frequência cardíaca fetal; VPP: Ventilação com pressão positiva.

Na tabela 4, encontra-se os resultados dos exames de tomografia de crânio e eletroencefalograma, que também fazem parte dos critérios para o diagnóstico da asfixia, definidos na metodologia desta pesquisa. Não foi realizada ressonância magnética de crânio em nenhum recém-nascido.

**TABELA 4.** Resultado dos exames de tomografia de crânio e eletroencefalograma, do grupo de RNs asfixiados (n = 7). Maternidade Darci Vargas, Joinville(SC), 2004/2005.

Exame	Idade no momento da realização	Resultados
Tomografia	Média: 7 dias Variação: 3 – 12 dias	Normal: 2/6* Alterados: 4/6 - Localização** : Cortical/subcortical focal ou multifocal: 3 Gânglio basal/tálamo: 2 Neuronal Difusa: 1 Parassagital: 1 Hematoma epidural: 1
EEG	Média: 6 dias Variação: 3-9 dias	Normal: 1/6* Alterado: 5/6 Diminuição da amplitude/frequência: 1 Atividade <i>sharp</i> focal/multifocal: 2 Surto-supressão: 2 Isoelétrico: 0/6

\*Um paciente foi a óbito antes de realizar a tomografia; \*\* Encontrada mais de uma lesão em mais de um paciente.

Os RNs asfixiados foram classificados conforme a gravidade do comprometimento clínico e neurológico, no momento da coleta do líquido, segundo a classificação proposta por SARNAT e SARNAT<sup>80</sup>, e o resultado está demonstrado na tabela a seguir.

**TABELA 5.** Classificação dos RNs asfixiados, quanto à gravidade e evolução para óbito. Maternidade Darci Vargas, Joinville (SC), 2004/2005.

CLASSIFICAÇÃO	n
Classificação – gravidade	
Estágio 1 - leve	1/7
Estágio 2 - moderado	4/7
Estágio 3 - grave	2/7
Óbito	1/7

A tabela 6 relaciona os valores do líquido cefalorraquidiano encontrado nos grupos de RNs asfisiado e no grupo controle. Em todas as amostras coletadas, nos dois grupos, não foram identificadas bactérias na bacterioscopia, e não houve crescimento bacteriano em nenhuma cultura do LCR.

**TABELA 6.** Valores do LCR nos RNs asfisiados e grupo controle. Maternidade Darci Vargas, Joinville (SC), 2004/2005.

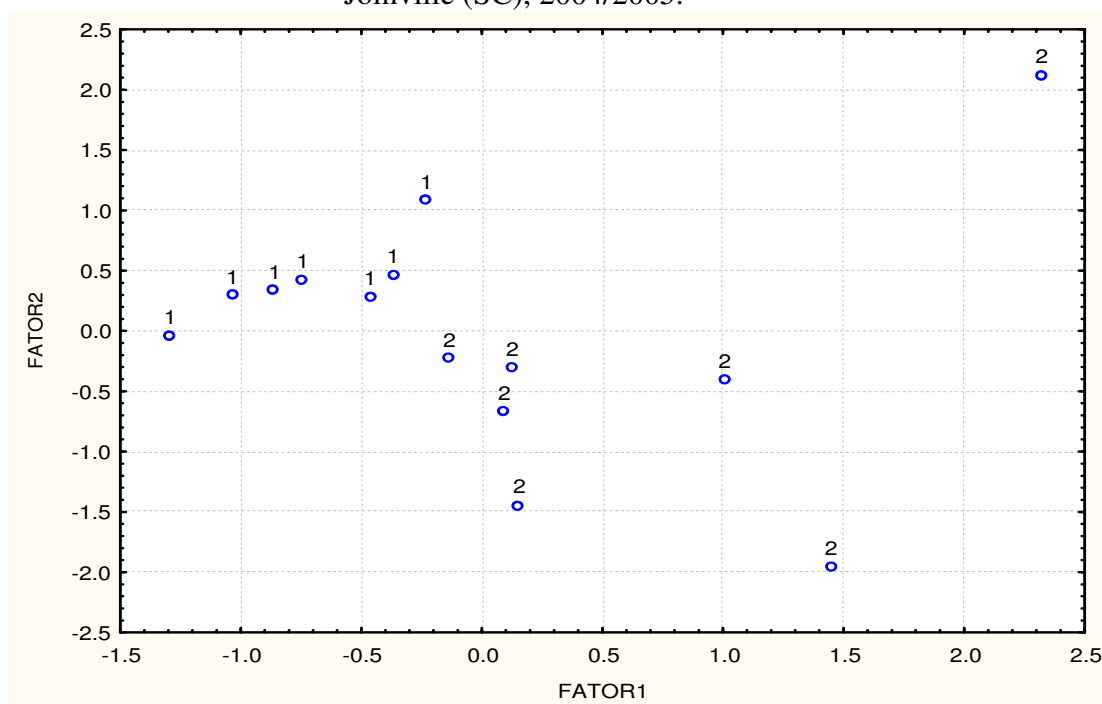
VARIÁVEIS	ASFISIADOS n = 7	CONTROLE n = 7	Probabilidade de significância p <sup>*</sup>
Contagem de leucócitos /mm <sup>3</sup>			0,3924
Média	2,28	4,14	
Mediana	2,00	3,00	
DP	1,38	4,18	
Variação	1 – 4	1 – 13	
Porcentagem de linfomonócitos			0,5338
Média	98,57	95,57	
Mediana	100,00	100,00	
DP	3,77	11,28	
Variação	90 - 100	70 - 100	
Proteínas (mg/dl)			<b>0,0087*</b>
Média	47,57	88,57	
Mediana	45,00	82,00	
DP	8,86	39,88	
Variação	38,0 – 65,0	52,0 – 165,0	
Glicose (mg/dl)			0,0730
Média	55,57	37,57	
Mediana	50,00	35,00	
DP	28,13	11,32	
Variação	30 – 117	24 – 60	
Contagem de hemácias /mm <sup>3</sup>			0,6983
Média	3,28	100,71	
Mediana	2,00	2,00	
DP	2,98	170,04	
Variação	0 – 7	0 – 420	

\* p ≤ 0,05. Teste não-paramétrico Anova – Kruskal-Wallis.

**TABELA 7.** Relação glicorraquia/glicemia, nos grupos de RNs asfixiados e controle. (Valores médios de glicose – em mg/dl). Maternidade Darci Vargas, Joinville (SC), 2004/2005.

Local de coleta da glicose	Asfixiados n = 7	Controle n = 7
LCR	55,57	37,57
Sangue	122,85	49,57
Relação LCR/sangue	0,45	0,75

**FIGURA 1.** Análise fatorial pelos componentes principais dos dois grupos (asfixiados e controle). Maternidade Darci Vargas, Joinville (SC), 2004/2005.



● 1 = grupo RNs asfixiados; ● 2 = grupo RNs controle.

**TABELA 8.** Análise estatística das variáveis em estudo no LCR, nos grupos de RNs asfixiados e controle, para determinação da probabilidade de significância estatística - Teste não-paramétrico Anova – Kruskal-Wallis.  $p \leq 0,05$ . Maternidade Darci Vargas, Joinville (SC), 2004/2005.

Variável	p - valor
Proteínas (mg/dl)	<b>0,0087*</b>
Glicose (mg/dl)	0,0730
Leucócitos/mm <sup>3</sup>	0,3924
Porcentagem de linfomonócitos/mm <sup>3</sup>	0,5338
Hemácias /mm <sup>3</sup>	0,6983

\*  $p \leq 0,05$



## 5. DISCUSSÃO

A interpretação adequada dos resultados do LCR deverá ser feita conhecendo-se os padrões de normalidade e entendendo-se os principais parâmetros como um conjunto. Celularidade total e específica, bem como a bioquímica do LCR (proteína, glicose, cloretos) como dados isolados têm pouco valor<sup>39, 70, 82</sup>.

Após os primeiros trabalhos publicados por STEWART<sup>85</sup> em 1928, inúmeros artigos foram publicados com o objetivo de definir o padrão de normalidade para as características bioquímicas e celulares do LCR de RN. Diferentes livros textos de neurologia, neurologia neonatal e perinatologia, fazem referência a diferentes autores como sendo o *padrão de normalidade* (Anexo IV – Tabela 13).

O estudo que recebe o maior número de referências nas publicações mais recentes, é o trabalho de SARFF e colaboradores<sup>55</sup>, que examinaram o resultado dos achados liquóricos de 117 RNs de risco, incluindo um grande número de RNT e prematuros (87 e 30, respectivamente).

Existem várias publicações nacionais, que procuraram identificar os valores normais do LCR para RNs<sup>41, 68, 86-90</sup>, com destaque para a publicação de NASCIMENTO-CARVALHO e MORENO-CARVALHO<sup>68</sup>, que fizeram uma revisão dos achados liquóricos de RNs de alto risco ( 25 RNT e 38 RNPT) e consideraram como critério de inclusão, somente aqueles resultados que não apresentavam acidentes de punção, ou seja, contagem de hemácias/mm<sup>3</sup> igual a zero.

Fator importante a levar-se em consideração para a interpretação do LCR é a idade do paciente. Diferentes valores são encontrados para RNs, crianças pequenas e adultos. Entre os RNs, prematuros ou a termo, também se encontram valores diferentes para o padrão de normalidade. E ainda, dentro do primeiro mês de vida, também foram observadas diferenças.

Foi proposta deste estudo analisar os achados liquóricos em recém nascidos exclusivamente a termo, para que se pudesse limitar a população estudada, ficando a amostra mais homogênea, e ainda sendo limitado o tempo de coleta do líquido, para, no máximo 48 horas de vida.

AHMED e colaboradores<sup>57</sup> estudaram 108 RN a termo, sadios, que foram submetidos a PL no primeiro mês de vida, por suspeita de infecção do SNC e que o resultado foi considerado normal, ou seja, não havia infecção. Dividiram em quatro grupos conforme a

idade (0-7, 8-14, 15-21 e 22-30 dias de vida), e encontraram uma diminuição progressiva no número total de células – de 15 células/mm<sup>3</sup> no grupo mais jovem, para 4,8 células/mm<sup>3</sup> no grupo de 22 a 30 dias de vida, e ainda, uma diferença que foi considerada estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ) para os índices de proteína nos dois grupos iniciais, quando comparados aos RN com mais de 15 dias de vida. BONADIO et al.<sup>39</sup> comparou um grupo de 35 RNT de zero a quatro semanas de vida, com 40 RNT de quatro a oito semanas de vida, e encontrou diferenças significativas tanto no número de leucócitos, quanto na proteinorraquia (8,5 e 4,5 células por mm<sup>3</sup>, 84 e 59 mg/dl de proteínas, respectivamente para os grupos de 0-4 semanas e 4-8 semanas). LUZ<sup>89</sup> estudou o LCR de 79 RNT considerados normais, obtendo uma amostra de LCR no 2º dia de vida e em 40 RN obteve uma segunda amostra no 7º dia de vida. Não encontrou diferença no número total de leucócitos, mas um número maior de hemácias na amostra coletada no 2º dia de vida.

Acredita-se que o LCR de RNPT e RNT de menor idade exprime a imaturidade neurológica dos sistemas e barreiras hemato-encefálica e hemato-liquórica, tendendo a apresentar um maior número de leucócitos, presença de células imunocompetentes (linfócitos ativados, retículo-monócitos, macrófagos, plasmócitos e células da pia-máter), além de altas taxas de linfócitos<sup>39, 91</sup>.

O tempo médio para obtenção da amostra de LCR, neste estudo foi similar nos dois grupos, sendo, em média, 28 h para o grupo de RNs asfixiados e 31 h de vida no grupo controle (tabela 1). A concentração aumentada de alguns metabólitos e atividades enzimáticas, como hipoxantina e lactato, tipicamente normalizam após 24-48 h de idade pós-natal, mesmo em asfixiados graves<sup>26</sup>. Não há como definir qual seria o momento ideal para coleta do LCR. Dados de estudos com RN sadios e asfixiados, indicam que entre 24 e 72hs após o nascimento, será mais provável captar alterações bioquímicas associadas à asfixia<sup>30, 32, 92</sup>.

Outro cuidado que se teve, foi a homogeneidade das populações estudadas. O perfil dos dois grupos de RNs ( grupo de asfixiados e grupo controle) não demonstraram diferenças importantes entre si: ambos foram constituídos por sete casos, sendo quatro RNs do sexo masculino e três do sexo feminino, com as médias dos dados antropométricos similares (peso, estatura e perímetro cefálico), e mesma idade gestacional, com o mesmo número de RN AIG (5/7), conforme demonstrado ( tabela 1). Resultados homogêneos também são observados quando se analisa os grupos de mães (tabela 2): não diferiram quanto à idade materna, número de consultas realizadas no pré-natal, ou na presença de complicações ou doenças na gestação, que pudessem interferir no desfecho final da gravidez, e com possível repercussão para o feto.

Considerou-se importante que houvesse esta semelhança entre os grupos, o que permitiu analisar os resultados líquidos aqui apresentados, com a menor interferência possível de fatores externos, quer sejam fatores maternos, gestacionais ou do próprio recém-nascido, tendo como diferença única entre os grupos, a presença da asfixia perinatal.

Além de se ter os dois grupos a serem comparados, homogêneos quanto às características da população, foi necessário ter a maior certeza possível de se estar diante de um grupo de crianças que realmente sofreram asfixia perinatal. Como não há um consenso, de qual seriam os critérios mais precisos para o diagnóstico da asfixia perinatal, utilizou-se neste estudo, uma associação e adaptação de critérios conforme preconizados pela Academia Americana de Pediatria<sup>24</sup>, Colégio Americano de Ginecologia e Obstetrícia<sup>17</sup>, Sociedade Ginecologia e Obstetrícia do Canadá<sup>79</sup> e pela Força Tarefa Internacional para Paralisia Cerebral (*The International Cerebral Palsy Task Force Consensus Statement*)<sup>7, 20</sup>, e por inúmeras publicações recentes que fizeram pesquisas com RNs asfixiados<sup>5, 6, 16, 31-33, 46-49, 92-96</sup>.

Os índices de Apgar observados nesta pesquisa estão de acordo com os critérios de inclusão: abaixo de seis no 5º. minuto de vida para os RNs asfixiados, e acima de sete no 1º minuto de vida no grupo controle para todos os casos (tabela 3). Pontuações baixas no primeiro e quinto minutos devem servir como referência para outros testes diagnósticos, a fim de identificar a existência da asfixia<sup>15</sup>. Cerca de 75% das crianças com Paralisia Cerebral, tem escore de Apgar normal<sup>7</sup>. Se persistirem baixos após o 10º. minuto, será maior a taxa de morbi-mortalidade<sup>10, 50</sup>. O índice de Apgar reflete o estado do RN num período de alguns minutos após o nascimento, enquanto que EHI / EN referem-se a um fenômeno de horas ou dias de duração<sup>19</sup>.

Evidência de sofrimento fetal intraparto é também um dos critérios utilizados. Todos os sete RNs asfixiados apresentaram alteração na monitorização da frequência cardíaca fetal (tabela 3). Existem controvérsias também quando a eficácia e ao valor prognóstico da monitorização cardíaca fetal (MCF), porque existem alterações detectadas no trabalho de parto de um grande número de crianças que são normais, e também porque o aumento do número de cesarianas devido ao achado de alterações na MCF, tem tido pouco ou nenhum impacto em prevenir lesões neurológicas<sup>23, 57, 97</sup>. Por outro lado, serve como um indicador a mais, para o diagnóstico da asfixia perinatal<sup>6, 15, 16, 20, 32, 33, 49, 96</sup>.

São alterações que estão relacionadas ao sofrimento fetal intraparto, e conseqüente hipóxia /acidemia: 1) bradicardia persistente, acompanhada por perda de variabilidade da frequência cardíaca fetal e desaceleração; 2) diminuição ou perda da variabilidade e, mais importante ainda, quando associado à desaceleração tardia<sup>97</sup>.

Também é um indicador de asfixia perinatal a presença de líquido amniótico meconial (LAM), encontrado em quatro casos do presente estudo. Aproximadamente de 10 a 15% das gestações normais, e até 50 % das gestações pós-termo apresentam LAM. Apesar de sua presença ser um indicador de sofrimento fetal intraparto, não se sabe exatamente qual a importância deste sinal no diagnóstico da gravidade e prognóstico da asfixia perinatal<sup>14,98</sup>.

Os estudos não consideram o tipo de parto como critério para o diagnóstico da asfixia perinatal, no entanto, ao se analisar o tipo de partos nos dois grupos, observa-se que naquelas crianças do grupo controle, todos os sete nascimentos foram por via vaginal, enquanto nos RN asfixiados observou-se cinco cesarianas e dois partos vaginais sendo um com auxílio de fórceps (tabela 2). Em nenhum dos dois grupos as mães relataram ter tido algum aborto em gestação anterior, o que fortaleceria o conceito de não haver condições maternas prévias, que poderiam também, ter contribuído para que houvesse nesta gestação, alteração no conceito.

Em 1986, NELSON e ELLEMBERG<sup>8</sup> e mais recentemente CLARK e HANKINS<sup>99</sup> observaram que “apesar do otimismo inicial de que a incidência de Paralisia Cerebral poderia desaparecer com a evolução e melhora técnica e científica nos cuidados obstétricos e neonatais, não houve nenhuma diminuição nas últimas duas décadas” .

Todos os RNs que sofrem asfixia suficientemente importante para provocar uma lesão cerebral que deixará seqüelas , apresentarão durante os primeiros dias de vida um quadro de encefalopatia aguda, denominada por VOLPE<sup>23</sup> de Síndrome Neurológico Neonatal (SNN).

Todos RNs do grupo de asfixiados apresentaram SNN, sendo que seis cursaram com a sintomatologia nas primeiras 24 h de vida e um permaneceu com sintomatologia neurológica após 72 h (tabela 3). Quando classificados conforme a gravidade, segundo os critérios estabelecidos por SARNAT e SARNAT<sup>80</sup>, seis apresentavam-se no estágio 2 ou 3 (moderado e grave), sendo que um RN foi a óbito, no segundo dia de vida por disfunção de múltiplos órgãos (tabela 5). Também todos os RNs do grupo asfixiado aqui estudados, necessitaram de ventilação com pressão positiva durante algum período após o nascimento.

No RN asfixiado, a acidose é tipicamente mista. Apesar do padrão misto, geralmente a acidemia é de origem respiratória, com pCO<sub>2</sub> elevado e HCO<sub>3</sub> baixo e excesso de bases (BE) acima de -12mEq/L. Valores maiores que -20mEq/L, estão relacionados como prognóstico de morbidade pós-asfixia neonatal<sup>15, 20</sup>. Na fase inicial, a acidose respiratória ocorre como consequência da troca ineficiente de gases entre o pulmão e a placenta, com acúmulo de CO<sub>2</sub>. Evolutivamente há a manutenção de O<sub>2</sub> baixo (hipoxemia), desenvolvendo metabolismo anaeróbico celular e acúmulo de ácido láctico na corrente sanguínea, com acidose metabólica

De acordo com definição estatística, a acidose torna-se significativa, quando o pH da circulação fetal cai mais do que dois desvio-padrão: escalpe fetal menor 7.20, e abaixo de 7.10 em sangue arterial umbilical<sup>13, 100</sup>. A acidemia é considerada grave quando o pH encontrado for menor que 7.0. Alguns autores acham mais apropriados considerar valores de pH, para o diagnóstico da asfixia perinatal entre 7.10 / 7.15<sup>15</sup>, ou ainda, menores que 7.20<sup>32, 48</sup>.

Nesta casuística, o pH médio encontrado foi 7,19 e com BE médio -14,9 mmol/L (tabela 3). Por dificuldades técnicas para coleta direta do sangue do cordão umbilical na hora do parto, optou-se por utilizar o resultado da gasometria do sangue arterial periférico, colhido dentro dos primeiros 60 minutos de vida, conforme preconizado por diversos autores<sup>5, 6, 16, 20, 31, 47, 49, 92-96, 101</sup>.

Quando se tem o pH entre 7.0-7.20 parece não haver correlação forte com morbidade neurológica neonatal imediata ou em longo prazo, e o pH menor de 7.0 aumenta o risco de comprometimento neurológico seqüelar, mas não significa necessariamente que a acidemia isolada, desenvolverá lesão hipóxica cerebral, daí a necessidade de utilizar vários parâmetros para o diagnóstico da asfixia perinatal<sup>15, 20, 23</sup>.

Alguns autores também incluem a dosagem de lactato como marcador importante da asfixia<sup>32, 42, 43, 76, 78</sup>. O ácido láctico é o produto final da glicólise anaeróbica, que em condições de hipóxia celular, estará, junto com o piruvato, aumentado em nível extracelular<sup>102, 103</sup>. Para alguns outros autores o ácido láctico tem valor limitado como um marcador de hipóxia e sugerem que deveria ser utilizada dosagem de hipoxantina, um produto do catabolismo do ATP, por refletir mais efetivamente que o lactato, o estado intracelular<sup>26, 103, 104</sup>.

No presente estudo, foi possível fazer a dosagem de lactato do sangue do cordão em cinco dos sete RNs asfixiados, e os resultados encontrados estavam acima de 3,0 mmol/L, em todos os RNs, tendo como valor médio 11,16 mmol/L (tabela 3). A mesma dificuldade relatada acima, encontrou-se para coleta da amostra de sangue do cordão umbilical. Optou-se então, por coletar o fluxo livre do sangue misto do cordão, venoso e arterial, imediatamente após o parto e antes do pinçamento do cordão pelo obstetra, conforme é preconizado por alguns autores. SHIREY e colaboradores<sup>105</sup>, numa pesquisa com RNs saudáveis, fizeram dosagem de lactato, pH, pO<sub>2</sub> e pCO<sub>2</sub> a partir de coleta de sangue de cordão umbilical arterial e venoso de 85 RNs, e compararam com a dosagem feita a partir do sangue obtido do fluxo livre do sangue umbilical misto (venoso e arterial) de 48 RNs, e concluíram que a medida de lactato é satisfatória quando obtida através do fluxo livre, com forte índice de correlação, especialmente quando comparado com sangue venoso (r = 0,97). GALLAGHER *et al.*<sup>102</sup> encontraram correlação positiva entre a dosagem de lactato do sangue arterial e venoso em 74 adultos,

quando foram feitas dosagens simultâneas no mesmo paciente, enquanto MURDOCH *et al.*<sup>40</sup> obtiveram amostras de sangue arterial periférico e venoso misto (por cateter de artéria pulmonar) e dosaram lactato em crianças gravemente enfermas de uma unidade de terapia intensiva, e também não foi observada diferença significativa entre as duas amostras.

Tomografia computadorizada de crânio e ressonância magnética, deveriam ser realizadas dentro da primeira semana de vida, em todos os RNs com encefalopatia neonatal, sendo importantes exames para definir localização e extensão das lesões, bem como trazer informações adicionais no que se refere ao prognóstico evolutivo<sup>6, 106</sup>.

COWAN<sup>6</sup> acredita que apesar da controvérsia sobre a etiologia, momento do insulto e os critérios para definir asfixia perinatal, a maioria dos RNs com uma história clínica sugestiva de asfixia intraparto seguida de um síndrome neurológico neonatal terá na ressonância magnética ou tomografia de crânio evidências de insulto cerebral agudo, e, a presença de alterações nos exames de neuroimagem são considerados, pela força-tarefa internacional que analisa e define critérios relacionados à paralisia cerebral, como critérios adicionais importantes para o diagnóstico da relação causal entre insulto hipóxico intraparto e paralisia cerebral<sup>7, 20</sup>.

Seis pacientes realizaram tomografia de crânio, e em quatro foram encontradas alterações sugestivas de lesões hipóxico-isquêmicas, sendo estes exames realizados em média, no sétimo dia de vida (tabela 4). As alterações tomográficas encontradas são os padrões mais freqüentemente encontrados na literatura: alterações específicas nos gânglios da base e *watershed* parassagital, e ainda isquemia focal ou multifocais<sup>34, 106, 107</sup>.

Assim como os parâmetros descritos anteriormente, o eletroencefalograma como parâmetro isolado não faz diagnóstico de asfixia perinatal. Entretanto, o EEG tem valor importante quando associado ao SNN, tanto na definição da gravidade, como para estabelecer prognóstico, para o acompanhamento evolutivo da encefalopatia neonatal ou ainda para confirmar ou não o diagnóstico clínico de crises convulsivas<sup>23, 80, 108</sup>.

Da mesma maneira que ocorreu com a realização da tomografia de crânio, somente um dos sete RNs asfíxiado não realizou EEG. Em dois encontrou-se um padrão eletroencefalográfico de surto-supressão, que demonstra uma encefalopatia grave, um normal e nos outros três observou-se alterações menos graves (tabela 4).

Uma grande variedade de traçados pode ser observada na EHI. Inicialmente observa-se um ritmo de base com baixa voltagem e predomínio de ondas lentas. Evolutivamente ocorre o aparecimento de um padrão periódico, caracterizado por períodos de intensa diminuição da voltagem com surtos de ondas agudas e ondas lentas de projeção difusa, podendo surgir

assincronia. Mais tarde, padrão periódico pode tornar-se muito mais evidente, com maior supressão e alguns surtos, caracterizados por pontas e ondas lentas <sup>7, 109</sup>. A presença do padrão surto-supressão, significará, especialmente no RN a termo, péssimo prognóstico, e poderá evoluir para um traçado isoeétrico <sup>1, 10, 23, 80, 108</sup>. Nos estágios da EHI, estabelecidos por SARNAT e SARNAT <sup>80</sup>, no estágio 1 (leve), o EEG é normal, no estágio 2 (encefalopatia moderada) aparece padrão de baixa voltagem e padrão periódico, e no estágio 3 (grave) o padrão será periódico ou isoeétrico.

Envolvendo exteriormente todo o encéfalo e a medula, dos quais está separado somente pela pia-máter, em íntima relação com o sangue, do qual esta isolado apenas pela barreira hemato-liquórica, o líquido é um líquido peculiar do organismo. Para REIS *et al.* o líquido ocupa uma posição privilegiada para receber as impressões das manifestações das diferentes enfermidades que acometem o SNC, sendo ele então um meio de investigação laboratorial, comportando-se de certo modo, como uma “sentinela diagnóstica”, segundo Quadbeck <sup>82</sup>.

Para comparação dos resultados do perfil liquórico entre os dois grupos estudados, utilizou-se análise fatorial para identificar alguma variável, que isoladamente ou não, poderia melhor contribuir para esta discriminação entre os grupos <sup>110</sup>.

Observa-se a representação gráfica dos escores obtidos de cada RN (Figura 1), ao utilizar o procedimento de análise fatorial. Consideram-se simultaneamente as cinco variáveis pesquisadas (citometria, predomínio linfomonocitário, proteinorraquia, glicorraquia e presença de hemácias), em um plano com duas dimensões. Nesta figura observa-se uma clara divisão espacial em dois grupos de RN: **grupo 1** - RNs asfíxiados; e **grupo 2** - RNs do grupo controle. Esse achado é suportado por um total de inércia de 60,53% (37,14% para Fator 1 e 23,38% para o Fator 2), ou seja, o Fator 1 combina as cinco variáveis pesquisadas simultaneamente e explica 37,14% da variabilidade total dos dados, e o fator 2 explica 23,38%. Nesta análise evidenciou-se a existência de associação de variáveis nos dois grupos e um comportamento mais homogêneo das variáveis estudadas no grupo 1.

A partir da discriminação dos dois grupos buscou-se identificar qual a variável que mais contribui nesta discriminação, ou seja, na diferenciação entre os grupos. Como os dados não tinham distribuição normal, utilizou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, e encontrou-se maior probabilidade de significância ( $p \leq 0,05$ ) para os dados referentes à proteinorraquia ( $p = 0,0087$ ), conforme os resultados apresentados na tabela 9. A segunda variável que mais poderia contribuir para discriminação entre os dois grupos, seria a glicorraquia, porém sem um valor estatisticamente significativo ( $p=0,0730$ ).

Os espaços ocupados pelo LCR são revestidos por dois tipos de células: células ectodérmicas (epiteliais) do sistema ventricular e células mesodérmicas (mesenquimais) do espaço subaracnóideo. Em tempos passados admitia-se que as células encontradas no LCR tinham origem no sangue, entretanto estudos posteriores demonstraram a origem histiocitária. Porém, nos processos inflamatórios agudos com formação de exsudato, os neutrófilos provêm do sangue <sup>82</sup>.

Utilizou-se a tabela 9 (Apêndice V) para comparar-se os resultados obtidos no presente estudo, com estudos de três diferentes autores e observou-se que os resultados obtidos nesta pesquisa não demonstrou diferença significativa entre os grupos de RNs asfixiados e controle, tanto para contagem total de leucócitos, quanto para porcentagem de linfomonócitos ( $p = 0,3924$  e  $0,5338$ , respectivamente). Os valores encontrados são similares aos da literatura, porém o grupo de RNs asfixiados apresenta a menor média para a contagem total de leucócitos entre os três estudos utilizados para comparação. Nota-se ainda, um valor muito diferente em relação à porcentagem de linfomonócitos relatado na pesquisa de SARFF *et al.* <sup>55</sup>, quando comparado aos outros estudos.

O perfil citométrico é um dos mais valorizados parâmetros liquóricos. Alguns requisitos são necessários para que se possa ter uma técnica adequada ao estudo da citomorfologia <sup>41, 87, 89</sup>. Na criança maior e no adulto, a citomorfologia do LCR é caracterizada apenas por linfócitos e retículo-monócitos, diferindo bastante das células presentes no RN, que apresenta maior quantidade de eritrócitos, presença constante e elevada de linfócitos e reticulomonócitos, achado comum de polimorfonucleares neutrófilos e macrófagos, eosinófilos e presença eventual de células endimárias e reticulares indiferenciadas <sup>57, 91</sup>. A imaturidade da barreira hemato-liquórica no RN justifica a presença desta citomorfologia <sup>41</sup>, confirmada por estudos que fizeram análise do líquido comparando o resultado de coletas feitas entre grupos com idade pós-natal diferente <sup>39, 87</sup> ou comparando RNT com RNPT <sup>55, 56</sup>.

A provável quebra de barreira hemato-liquórica, observada fisiologicamente nos RNs, especialmente nos mais jovens e nos prematuros, não parece ter sido influenciada pela asfixia. Nesta pesquisa os resultados quanto ao número de leucócitos e predomínio linfocitário foi igual tanto no grupo controle, quanto na comparação com os valores considerados como padrão de referência de normalidade.

A glicose é o substrato energético essencial primário no cérebro em desenvolvimento. A hipoglicemia potencializa os efeitos deletérios da asfixia / hipóxia no cérebro. SALHAB *et al.* <sup>111</sup>, encontraram que cerca de 20 % dos RNs asfixiados grave apresentavam glicemia < 40mg/dl dentro dos primeiros 30 minutos de vida.



Nesta pesquisa o grupo de RNs asfixiados apresentou valor médio de glicorraquia mais elevado que o grupo controle. Os valores médios de glicorraquia nos dois grupos estão dentro da variação citada como referência por outros estudos <sup>55, 68</sup>. A glicorraquia encontrada no grupo de RNs asfixiados é mais próxima aos valores encontrados em outros estudos com RN sadios do que os valores do grupo controle, não seguindo um padrão, ou seja, índices de glicorraquia mais elevados que os apresentados por SARFF <sup>55</sup> e BONADIO<sup>39</sup>, e mais baixo que os de CARVALHO <sup>68</sup>, conforme a comparação demonstrada na tabela 10 (Apêndice VI).

Poder-se-ia pensar que estes valores mais baixos de glicorraquia encontrados no grupo controle, pudessem refletir algum distúrbio glicêmico a que estes RNs estavam submetidos. Mesmo considerando-se que em todos os sete casos, o resultado do LCR foi considerado normal, as crianças do grupo controle haviam sido submetidas a PL por suspeita de infecção perinatal ou por quadro de hipotonia e apatia, que poderiam refletir algum distúrbio metabólico ou infeccioso sistêmico, não identificado até aquele momento da PL.

Em indivíduos normais, há uma relação constante entre a glicemia e a glicorraquia, cujo valor médio é 0,63, com uma variação de 0,60 a 0,80. Modificações pequenas na glicemia não afetam a concentração da glicose no LCR. Mesmo cargas endovenosas altas de glicose fazem a glicorraquia elevar-se lentamente, porque a barreira hemato-encefálica só permite a entrada de pequena quantidade de glicose, entretanto, quando o mecanismo é inverso, ou seja, nas situações de hipoglicemia, há repercussão imediata também na glicose líquórica <sup>55, 82</sup>.

Observando-se os resultados desta pesquisa (tabela 1), verifica-se que no grupo de RNs asfixiados, a glicose sanguínea no momento da PL, tinha valores médios mais altos que no grupo controle (122,27 nos asfixiados e 49,57 mg/dl nos controles), da mesma maneira como foi observado para a glicorraquia (tabela 6). A relação glicorraquia/glicemia (tabela 7) foi menor no grupo de RN asfixiados (0,45 e 0,75 nos RN controle). Como esta relação observada para o grupo controle está dentro do esperado, pode-se imaginar que esta glicorraquia está refletindo os valores da glicemia. Já no grupo de asfixiados, a relação da glicose LCR/sangue baixa (0,45), poderia ser reflexo dos valores médios elevados da glicemia. É importante considerar que em média a PL foi feita com 28 h de vida, momento em que todos os RNs já estavam sob tratamento e certamente com infusão de solução de glicose endovenosa. Deve-se considerar também, que para uma casuística tão pequena, houve uma variação considerável na glicemia do grupo de RN asfixiados, tendo-se um valor máximo de 328 mg/dl, que certamente influenciou no resultado final da média deste grupo.

A glicose sanguínea chega ao cérebro através de um processo de difusão facilitada, que permite que este transporte seja mais rápido e efetivo, utilizando uma proteína transportadora

glicosilada pesada (GLUT1). Os níveis de GLUT1 são relativamente mais baixos nos cérebros imaturos. Na hipóxia, há um aumento do consumo cerebral de glicose e um dos primeiros mecanismos compensatórios é o maior fluxo de glicose para o cérebro. Hipoglicorraquia é frequentemente encontrada após hemorragia intracraniana, e estes valores podem permanecer baixos até três meses após a hemorragia<sup>23</sup>. A hipoglicorraquia está provavelmente relacionada às dificuldades nos mecanismos transportadores, ou ainda, pela utilização de glicose pelas hemácias, apesar de estudos não demonstrarem que possa haver consumo *in vitro*<sup>64, 112</sup>.

No único estudo encontrado na literatura, que faz pesquisa de valores bioquímicos convencionais utilizando RNs asfixiados, PROCIANOY e CECIN<sup>113</sup>, de Porto Alegre (RS), em 1983 investigaram a relação glicorraquia/glicemia, em 12 RNT asfixiados graves, comparados com 13 RNT não asfixiados. Os autores encontraram que a relação glicemia/glicorraquia do grupo asfixiado não diferiu do grupo controle, e concluíram que a asfixia não altera o transporte de glicose do sangue para o líquido.

No presente estudo, a asfixia também não demonstrou ser um fator determinante para mudança significativa nos índices de glicorraquia, não sendo encontrada diferença significativa na comparação entre os dois grupos ( $p = 0,0730$ ).

A presença de pequenas quantidades de hemácias no LCR de RNs, têm sido considerada normal. Determinar quais são os valores “normais” é limitado pela relativa alta incidência de sangramentos intracranianos, por hemorragias intraventricular frequentemente silenciosas em RNPT, ou mesmo pequenas hemorragias subaracnóideas por traumas menores do parto<sup>23</sup>.

SARFF *et al.*<sup>55</sup>, excluindo punções traumáticas (“*grossly bloody*”), não encontrou diferença significativa ao comparar RNPT com RNT (média de 112 e 180 hemácias/mm<sup>3</sup>, respectivamente). LUZ<sup>89</sup> encontrou diferença quando comparou a quantidade de hemácias em LCR de RNT, em idades pós-natal diferentes, sendo maior nos RN de sete dias com uma média de 155/mm<sup>3</sup> e 74/mm<sup>3</sup> para o 28º dia. NAIDOO<sup>58</sup>, também encontrou menor quantidade de hemácia em RN mais jovem (7º dia comparado com o 1º dia de vida).

CARVALHO *et al.*<sup>68</sup> fizeram análise do perfil citomorfológico e bioquímico do LCR de RNT e RNPT, em um grupo sem acidentes de punção (hemácias = 0/mm<sup>3</sup>), e comparou o resultado com um outro grupo com pequena quantidade de hemácias ( $\leq 500$ /mm<sup>3</sup>), encontrando taxas de glicorraquia significativamente menores nos RNT do grupo com presença de pequena quantidade de hemácias, e uma quantidade maior de proteínas nos RNPT, com punção com sangue, concluindo que mesmo pequena quantidade de hemácia pode interferir. Por outro lado, RODRIGUEZ *et al.*<sup>56</sup>, não encontraram diferença estatisticamente

significativa para número total de leucócitos, proteínas ou glicose, quando compararam o LCR com presença  $\leq 1000$  hemácias/mm<sup>3</sup> com  $> 1000$ /mm<sup>3</sup>, em RNPT com muito baixo peso ao nascer.

BONADIO <sup>114</sup> encontrou que em 20% das punções lombares para coleta de LCR em criança, ocorrem acidentes de punção com presença de líquido hemorrágico, e afirma que a maioria dos métodos que procuram determinar a relação leucócitos/hemácias no sangue e LCR, não são confiáveis. O recém-nascido tem o saco dural muito estreito, com tecido meníngeo mais friável e vasos sanguíneos que facilitam traumas com agulhas, necessitando que se tenha cuidados especiais, com técnicas adequadas, habilidade e experiência ao realizar coleta de LCR por PL em RNs <sup>115-118</sup>.

Um dos motivos que se justifica a necessidade de PL em RNs asfixiados, é a sua importância para o diagnóstico de sangramento intracraniano, especialmente a hemorragia subaracnóidea espontânea <sup>13, 23</sup>. Foi critério de exclusão de nossa pesquisa, os RNs que apresentassem LCR com contagem de hemácias superior a 500 hemácias/mm<sup>3</sup>. Conforme foi demonstrado (tabela 6), todos os RNs nos dois grupos estavam de acordo, observando-se que a contagem máxima no grupo asfixiado foi de sete hemácias/mm<sup>3</sup>, enquanto no grupo controle, obteve-se um RN com 420/mm<sup>3</sup>.

Apesar das diferenças de médias, a mediana encontrada nos dois grupos foi a mesma, e não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p=0,6983$ ). Vale lembrar que na análise estatística utilizou-se teste não paramétrico ANOVA de Kruskal-Wallis, que não parte da análise das médias, mas sim a partir da ordenação numérica de todos os dados, dos dois grupos, e os valores da ordenação são somados em cada grupo a ser comparado <sup>110, 119</sup>.

O provável é que a maior quantidade de hemácias observadas no grupo controle deveu-se a PL traumática ou ainda devido a pequenos traumas do parto ou mesmo hemorragia subaracnóidea espontânea.

A proteinorraquia no recém-nascido apresenta um padrão de normalidade com variação conforme a idade gestacional e pós-natal, diminuindo progressivamente, chegando a valores semelhantes aos dos adultos por volta do quarto mês de vida <sup>82, 57</sup>. Acredita-se que isso se deva à imaturidade da barreira hemato-encefálica nos prematuros e RNs mais novos <sup>68, 71, 86, 120</sup>. A literatura tem demonstrado por meio de estudos, estas variações (Anexo V – Tabela 14).

Nesta pesquisa houve diferença estatisticamente significativa quando se comparou os valores da proteína líquórica nos dois grupos, com taxa mais baixa no grupo de RNs asfixiados ( $p = 0,0087$ ). Do mesmo modo ao comparar-se o valor médio do grupo de RN asfixiados, com

cinco outras pesquisas, também se observou taxas de proteinorraquia mais baixa no presente estudo (Apêndice VII - tabela 11).

Alguns pesquisadores têm se dedicado a estudar a interferência que a presença de hemácias pode exercer sobre a citomorfologia e bioquímica do LCR<sup>56, 57, 59, 64, 68, 71</sup>. Não se sabe ao certo, o quanto pequenas quantidades de hemácias podem interferir na proteinorraquia. REIS e colaboradores<sup>82</sup>, afirmam que valores menores que 2000 hemácias/mm<sup>3</sup>, irão interferir muito pouco no resultado final, e que somente valores maiores de hemácias é que poderão realmente prejudicar a interpretação do final do LCR.

Acredita-se, portanto, que a presença de taxas maiores de proteinorraquia no grupo controle não deve ter sido influenciada pela quantidade maior de hemácias (tabela 6). Na pesquisa de CARVALHO *et al.*<sup>68</sup>, foi encontrada uma quantidade maior de proteínas somente no grupo de RNPT, e como se discutiu aqui, as taxas de proteinorraquia tendem a diminuir conforme aumenta a idade (Anexo V- Tabela 14).

O que a análise fatorial nos mostrou (Figura 1), foi que os dois grupos, asfisiados e controle, guardam semelhanças entre si, porém com maior homogeneidade para o grupo de RNs asfisiados. E que a maior probabilidade estatística é de que as taxas de proteínas tenham exercido maior influência nesta discriminação.

Como explicar que no grupo de RN asfisiados encontrou-se uma taxa de proteínas menor? Seria influência da asfisia? Poder-se-ia considerar os valores encontrados como hipoproteinorraquia? Apesar de ter o valor médio mais baixo encontrado entre os cinco estudos comparados, esta média está dentro da variação encontrada por SARFF, CARVALHO e LUZ<sup>55, 68, 89</sup> (Apêndice VII - tabela 11).

As barreiras hemato-encefálica e hemato-liquórica, em situações normais, impedem o fluxo de proteínas para o LCR. Alterações de diversas etiologias podem modificar a permeabilidade destas barreiras: modificações da circulação sanguínea devido a obstruções venosas, por tumores ou outros processos compressivos, inflamatórios, infecciosos, tóxicos, metabólicos, doenças degenerativas, leucodistrofias, fraturas de vértebras, estase liquórica de qualquer natureza, presença de cateter de sistemas de derivação liquórica ventrículo-peritoneal, na Síndrome de Guillain-Barrè, acidentes cérebro-vasculares hemorrágicos, porém a presença de hipoproteinorraquia é uma situação raramente observada<sup>22, 82, 121, 122</sup>. Taxas diminuídas de proteína no LCR são raramente observadas, ocorrendo em pacientes gravemente desnutridos, ou na forma juvenil da Doença de Charcot<sup>82, 123</sup>.

Durante a asfisia o aporte inadequado de O<sub>2</sub> em nível celular, desencadeia uma série de eventos associados, que culminam na morte celular. O processo local de reperfusão pós-

isquemia, induz uma resposta inflamatória e citotóxica local, e com repercussões sistêmicas<sup>1, 13, 21, 23</sup>. Acredita-se que estes eventos devem aumentar a permeabilidade das barreiras hematoencefálicas, e permitir, como nas outras situações, um maior fluxo de proteínas para o líquido<sup>71, 120</sup>. MENKES e SARNAT<sup>22</sup> acreditam que deve haver hiperproteínoorraquia após asfixia perinatal, mas um LCR normal, não exclui a possibilidade do diagnóstico de asfixia.

Os achados deste estudo não nos permitem afirmar que as taxas mais baixas de proteínoorraquia encontrada no grupo de recém-nascidos asfixiados, seja um reflexo direto da asfixia.

São necessários outros estudos com um delineamento similar a este, com uma casuística maior para que se possa definir se há diferença nas características bioquímicas e citológicas no líquido de RNs asfixiados, motivo pelo qual este estudo terá continuidade.

## **Limitações do Estudo**

O pequeno número de RNs em cada grupo estudado, foi o principal fator limitante para a análise dos dados obtidos. Foram fatores que determinaram esta pequena amostra:

a. Calculou-se que 30 recém-nascidos seria o número de casos necessários para esta pesquisa. A partir dos registros da MDV, tinha-se em média, nos 12 meses que antecederam o início deste estudo, o registro do nascimento de três RNs asfixiados por mês, porém durante o período de realização desta pesquisa não ocorreu esta frequência esperada. Pesquisas com *RNs a termo asfixiados*, necessitam de um longo tempo de coleta de dados, para que se tenha uma casuística com um número de casos e controles significativos, como tem sido demonstrado por diversos autores. (Tabela 15 - Anexo VI).

b. A necessidade de descartar exames com contagem de hemácias superior a 500/mm<sup>3</sup>;

c. Foi estabelecido um limite máximo de 48 h para coleta do LCR, que fez com que alguns bebês tivessem nascido na MDV durante o período da pesquisa, mas não foi possível coletar o LCR, por condições clínicas do RN, ou por demora dos responsáveis em autorizarem sua inclusão na pesquisa;

d. Os RNs que comporiam o grupo controle, deveriam ser RN sadios, que com uma frequência muito baixa, são submetidos a PL, e quando isso ocorre, na maioria das vezes, o

líquor resultada em infecção ou é coletado por suspeita de infecção congênita do SNC, como a Sífilis, por exemplo, tendo que ser excluídos;

## 6 . CONCLUSÕES

1. A asfixia não demonstra ser um fator determinante para que pudesse ocorrer diferença na contagem total de leucócitos e no predomínio linfomocitário, na contagem total de hemácias e nas taxas de glicorraquia, não sendo encontrada diferença significativa na comparação entre os dois grupos (asfixiados e controle);

- Os achados deste estudo não nos permitem afirmar que as taxas mais baixas de proteinorraquia encontrada no grupo de recém-nascidos asfixiados, seja um reflexo direto da asfixia, apesar de haver diferença significativa entre os grupos;

2. As características da população estudada nos dois grupos são homogêneas, não diferindo quanto aos dados antropométricos, idade gestacional, ou tempo de vida no momento da coleta do LCR; e também não há diferença entre as características estudadas entre as mães dos RNs dos dois grupos;

3. Os dois grupos, asfixiados e controle, guardam semelhanças entre si, porém o grupo de RNs asfixiados é mais homogêneo;

4. O presente estudo não demonstra haver diferença nas características bioquímicas e citológicas estudadas no Líquor de RNs que sofrem asfixia ao nascer quando comparados com os valores considerados como padrão de referência de normalidade;

5. Através dos resultados obtidos no presente estudo, não é possível determinar se as alterações liquóricas dos RNs asfixiados são relevantes para o diagnóstico da asfixia perinatal.

## 7. REFERÊNCIAS

1. Amato M, Donati F. Update on perinatal hypoxic insult: mechanism, diagnosis and interventions. *Europ J Paediatr Neurol* 2000; 4(5): 203-9.
2. Little WJ. On the influence of abnormal parturition, difficult labors, premature birth, and asphyxia neonatorum on the mental and physical condition of the child, especially in relation to deformities. *Transactions of Obstetrical Society of London*. 1862; 2: 293. Citado por Carter BS, Haverkamp AD. The definition of acute perinatal asphyxia. *Clin Perinatol* 1993; 20(2): 287- 304.
3. Freud S. *Infantile cerebrallähmung. Nothnagel's specielle pathologie und therapie*. Vienna: A. Holder; 1897. Citado por Carter BS, Haverkamp AD. The definition of acute perinatal asphyxia. *Clin Perinatol* 1993; 20(2): 287- 304.
4. Nelson KB, Levinton A. How much of neonatal encephalopathy is due to birth asphyxia? *Am J Dis Child* 1991; 145:1325-1331.
5. Battin MR, Dezoete A, Gunn T, Gluckman PD, Gunn AJ. Neurodevelopment outcome of infants treated with head cooling and mild hypothermia after perinatal asphyxia. *Pediatrics* 2001; 107(3):480-484.
6. Cowan F. Outcome after intrapartum asphyxia in term infants. *Semin Neonatol* 2000; 5:127-140.
7. Hankins GD, Speer M. Defining the pathogenesis and pathophysiology of neonatal encephalopathy and cerebral palsy. *Obstet Gynecol* 2003; 102:628-36.
8. Nelson KB, Ellenberg JH. Antecedents of cerebral palsy: multivariate analysis of risk. *N Engl J Med* 1986; 315:81-6.
9. Amiel-Tison C, Ellison P. Birth asphyxia in the fullterm newborn: early assessment and outcome. *Dev Med Child Neurol* 1986; 28:671-682.
10. Vannucci RC. Hypoxic-ischemic encephalopathy. *Am J Perinatol* 2000; 17(3):113-120.
11. Badawi N, Kurinczuk JJ, Keogh JM, Alessandri LM, O'Sullivan F, Burton PR. Intrapartum risk factors for newborn encephalopathy: The Western Australian case-control study. *BMJ* 1998; 317:1549-58.
12. Ekert P, Perlman M, Steinlin M, Hao Y. Predicting the outcome of postasphyxial hypoxic-ischemic encephalopathy within 4 hours of birth. *J Pediatr* 1997; 131:613-617.
13. Du Plessis AJ, Volpe JJ. Perinatal brain injury in the preterm and term newborn. *Curr Opin Neurol* 2002; 15(2):151-7.



14. Rivkin MJ. Hypoxic-ischemic brain injury in the term newborn. *Clin Perinatol* 1997; 24:607-25.
15. Carter BS, Haverkamp AD. The definition of acute perinatal asphyxia. *Clin Perinatol* 1993; 20(2): 287- 304.
16. Shalak L, Perlman JM. Hypoxic-ischemic brain injury in the term infant-current concepts. *Early Hum Dev* 2004; 80:125-141.
17. ACOG Committee Opinion. Inappropriate uses of the terms fetal distress and birth asphyxia. *Int J Gynecol Obstet* 1998; 61:309-10.
18. Nelson KB, Levinton A. How much of neonatal encephalopathy is due to birth asphyxia? *Am J Dis Child* 1991; 145:1325-1331.
19. Levinton A; Nelson KB. Problems with definitions and classifications of newborn encephalopathy. *Pediatr Neurol* 1992; 8:85-90.
20. MacLennan A. A template for defining a causal relation between acute intrapartum events and cerebral palsy: international consensus statement. *Brit Med J* 1999; 319: 1054-59.
21. Procianoy RS, Silveira RC. Síndrome Hipóxico-isquêmica. *J Pediatr (Rio J)* 2001; 77(supl.1):s63-s70.
22. Menkes JH, Sarnat HB. Perinatal asphyxia and trauma. In: Menkes JH, Sarnat HB. *Child Neurology*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p.401-466.
23. Volpe JJ. *Neurology of the Newborn*. 4th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 2001.
24. American Academy of Pediatrics. Intrapartum care. In: *Guidelines for perinatal care*. 4<sup>th</sup> ed. AAP; 1997.p.93-125.
25. Rufo-Campos M, Palencia-Luaces R. Encefalopatía hipóxico-isquémica del recién nacido a término. Recientes avances, marcadores de hipoxia y opciones terapéuticas. *Rev Neurol* 2000; 31:617-23.
26. Vanucci RC, Yager J Y. The central Nervous System. In: Fanaroff AA, Martin RJ. *Neonatal-Perinatal Medicine. Diseases of the fetus and infant*. 6<sup>th</sup> ed. St. Louis: Mosby; 1997. p.812-951.
27. Chauhan SP, Magann EF, Morrison JC. Neonatal organ system injury in acute birth asphyxia sufficient to result in neonatal encephalopathy. *Obstet Gynecol* 2003; 101:203-204.
28. Silveira RC, Procianoy RS. Lesões isquêmicas cerebrais no recém-nascido pré-termo de muito baixo peso. *J Pediatr (Rio J)*. 2005; 81(1 Supl):S23-S32.

29. Grow J, Barks DE. Pathogenesis of hypoxic-ischemic cerebral injury in the term infant: current concept. *Clin Perinatol* 2002; 29:585-602.
30. Engenekon E, Gucuyener K, Erbas D, Ezgu FS, Atalay Y. Cerebrospinal fluid and serum nitric oxide levels in asphyxiated newborns. *Biol. Neonate* 1999; 76(4):200-206.
31. Florio P, Luisi S, Bruschetti M, Grutzfeld D, et al. Cerebrospinal fluid Activin-A measurement in asphyxiated full-term newborns predicts hypoxic-ischemic encephalopathy. *Clin Chem* 2004 Dec; 50(12): 2386-9.
32. Silveira RC, Procianoy RS. Níveis de interleucina-6 e fator de necrose tumoral-alfa no líquido de recém-nascidos a termo com encefalopatia hipóxico-isquêmica. *J Pediatr (Rio J)* 2003; 79(4): 297-302.
33. Ogihara T, Hirano K, Ogihara H, Misaki K, Hiroi M, Morinobu T, Kim HS, Ogawa S, Ban R, Hasegawa M, Tamai H. Non-protein-bound transition metals and hydroxyl radical generation in cerebrospinal fluid of newborn infants with hypoxic ischemic encephalopathy. [Pediatr Res](#) 2003; 53(4):594-9.
34. Foster-Barber A; Dickens B; Ferriero DM. Human Perinatal asphyxia: correlation of neonatal cytokines with MRI and outcome. *Dev Neurosci* 2001; 23:213-218.
35. Du Plessis AJ, Johnston MV. Hypoxic ischemic brain injury in the newborn. Cellular mechanisms and potential strategies for neuroprotection. *Clin Perinatol* 1997; 24:627-54.
36. Hill A, Volpe JJ. Hypoxic-ischemic injury in the newborn. *Semin Perinatol* 1982; 6:25-41.
37. Nelson KB, Levinton A. How much of neonatal encephalopathy is due to birth asphyxia? *Am J Dis Child* 1991; 145:1325-1331.
38. Levene ML, Kornberg J, Williams THC. The incidence and severity of post-asphyxial encephalopathy in full-term infants. *Early Hum Dev* 1985; 11:21-26.
39. Bonadio WA, Stanco L, Bruce R, Barry D, Smith D. Reference values of normal cerebrospinal fluid composition in infants ages 0 to 8 weeks. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11:589-591.
40. Murdoch IA, Turner C, Dalton RN. Arterial or mixed venous lactate measurement in critically ill children. Is there a difference? *Acta Paediatr* 1994 Apr; 83(4): 412-3.
41. Livramento JA, Luz BR, Hausen SR, Spina-França A. Citomorfologia do líquido cefalorraquiano do recém-nascido normal. *Arq neuro-psiquiatr (S. Paulo)* 1974; 32:207-211.

42. Prentice A, Vadgama P, Appleton DR, Dunlop W. A protocol for routine measurement of lactate and pyruvate in cord blood. *Br J Obstet Gynecol* 1989; 96:861-866.
43. Castro-Gago M, Rodriguez-Nunez A, Novo-Rodriguez MI, Eiris-Punal J. Parámetros bioquímicos predictivos de daño neuronal en la edad pediátrica. *Rev Neurol* 2001; 32(12): 1141-50.
44. Pappu LD, Purohit DM, Levkoff AH, Kaplan B. CSF cytology in the neonate. *Am J Dis Child* 1982; 136:297-298.
45. Gulcan H, Ozturk C, Arslan S. Alteration in antioxidant enzyme activities in cerebrospinal fluid with severity of hypoxic ischemic encephalopathy in newborns. *Biol Neonate* 2005; 88(2):87-91.
46. Liu H, Chang L, Chen Y, Xia S, Zhangx. Clinical implication of the changes of cAMP, TXA2 and PGI2 in CSF of asphyxiated newborn. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2003; 23(2):195-7.
47. Tekgul H, Yalaz M, Kutukculer N, Ozbek S, Kose T, Akisu M, Kultursay N, Gokben S. Value of biochemical markers for outcome in term infants with asphyxia. *Pediatr Neurol* 2004; 31:326-332.
48. Ezgu FS, Atalay Y, Gucuyener K, Tunç S, Koç E. Neuron-specific Enolase levels and neuroimaging in asphyxiated term newborns. *J Child Neurol* 2002; 17:824-9.
49. Blennow M, Savman K, Ilves P, Thoresen M, Rosengren L. Brain-specific proteins in the cerebrospinal fluid of severely asphyxiated newborn infants. *Acta Paediatr* 2001; 90(10): 1171-5.
50. Michetti F, Gazzolo D. S100B protein in biological fluids: a tool for perinatal medicine. *Clin Chem* 2002; 48(12):2097-2104.
51. Freeman JM, Nelson KB. Intrapartum asphyxia and cerebral palsy. *Pediatrics* 1998; 82:240-249.
52. Wolf J, Hoepffner L. The cerebrospinal fluid in the newborn and premature infants. *World Neurol* 1961; 2: 871-878.
53. Spiegel-Adolf M, Baird HW, Szekely EG, Wycis HT. Cerebro-spinal fluid studies in infant children with cerebral palsy and other neurologic disorders. *Pediatrics* 1954; 14:215-221.
54. Otila E. Studies on the cerebrospinal fluid in premature infant. *Acta Paediatr* 1948; 35(suppl 8):1-100.

55. Sarff LD, Platt LH, McCracken GH. Cerebrospinal fluid evaluation in neonates: comparison of high-risk infants with and without meningitis. *J Pediatr* 1976; 88:473-477.
56. Rodriguez AF, Kaplan SL, Mason Jr. EO. Cerebrospinal fluid values in very low birth weight infant. *J Pediatr* 1990; 116:971-4.
57. Ahmed A, Hickey SM, Ehrett S, Trujillo M, Brito F, Goto C, Olsen K, Krisher K, McCracken Jr. GH. Cerebrospinal fluid values in the term neonate. *Pediatr Infect Dis J* 1996; 15:298-303.
58. Naidoo BT. The cerebrospinal fluid in the healthy newborn infant. *S Afr Med J* 1968; 42: 933-935.
59. Portnoy JM, Olson LC. Normal cerebrospinal fluid values in children: another look. *Pediatrics* 1985; 75: 484-487.
60. Kaiser AM, Whitelaw AGL. Normal cerebrospinal fluid pressure in the newborn. *Neuropediatrics* 1986; 17: 100-102.
61. Krebs VLJ, Taricco LD. Fatores de risco para meningite bacteriana no recém-nascido. *Arq Neuropsiquiatr* 2004; 62(3-A): 630-634.
62. Krebs VLJ, Okay TS, Okay Y, Vaz FAC. Tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-1B and interleukin-6 in the cerebrospinal fluid of newborn with meningitis. *Arq Neuropsiquiatr* 2005; 63(1):7-13.
63. Krebs VLJ, Diniz EMA, Vaz FAC, Dias MJM, Takiguti C, Ramos JLA. Meningite bacteriana neonatal. Estudo prospectivo da evolução em longo prazo de 55 crianças. *Arq Neuropsiquiatr* 1996; 54(1): 75-81.
64. Mustonen K, Uotila L, Laitenen R, Koskiniemi M. CSF findings in neonates with seizures; infections and noninfectious. *J Perinat Med* 2003; 31(1):69-74.
65. Ramos SRTS, Feferbaum R, Manissadjian A, Vaz FAC. Meningite bacteriana neonatal. Agentes etiológicos em 109 casos durante período de dez anos. *Arq neuropsiquiatr* 1992; 50(3): 289-94.
66. Hristeva L, Bowler I, Booy R, King A, Wilkinson AR. Value of cerebrospinal fluid examination in the diagnosis of meningitis in the newborn. *Arch Dis Child* 1993; 69:514-517.
67. Bonadio WA. The cerebrospinal fluid: physiologic aspects and alterations associated with bacterial meningitis. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11:423-432.

68. Nascimento-Carvalho CMC, Moreno-Carvalho AO. Normal cerebrospinal fluid values in full-term gestation and premature neonates. *Arq neuropsiquiatr* 1998; 56 (3A): 375-380.
69. Carraccio C, Blotny K, Fisher MC. Cerebrospinal fluid analysis in systematically ill children without central nervous system disease. *Pediatrics* 1995; 96:48-51.
70. Fishman RA. Blood-Barrier in pathological conditions. In: Fishman RA. *Cerebrospinal Fluid in diseases of the nervous system*. 2ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1992.p.69 e 253-255.
71. Wong M, Schallagar BL, Buller RS, Storch GA, Landt M. Cerebrospinal fluid protein concentration in pediatric patients. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2000; 154:827-831.
72. Anagnostakis D, Messaritakis J, Damianos D, Mandyla H. Blood-brain barrier permeability in “healthy” infected and stressed neonates. *J Pediatr* 1992; 121:291-294.
73. Nagdyman N, Komen W, Ko HK, Muller C, Obladen M. Early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy after birth asphyxia. *Ped Res* 2001; 49:502-506.
74. Gucuyener K, Ergenekon E, Demiryurek T, Erbas D, Ozturk G, Koç E, Atalay T. Cerebrospinal fluid levels of nitric oxide and nitrotyrosine in neonates with mild hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Child Neurol* 2002; 17:815-818.
75. Groenandaal F, Lindemans C, Uiterwaal CS, de Vries LS. Early arterial lactate and prediction of outcome in preterm neonates admitted to a neonatal intensive care unit. *Biol Neonate* 2003; 83(3):171-6.
76. Matthew OP, Bland H, Boxerman SB, James Elizabeth. CSF lactate levels in high risk neonates with and without asphyxia. *Pediatrics* 1980; 66:224-27.
77. Rodríguez JO, Lecaros XG, Cortés M. Aminoácidos libres en líquido cefalorraquídeo de recién nacidos con encefalopatía hipóxico isquémica. [Rev Chil Pediatr](#) 1994; 65(4):201-4.
78. Chou YH, Tsou Yau KI, Wang PJ. Clinical application of the measurement of cord plasma lactate and pyruvate in the assessment of high-risk neonates. *Acta Paediatr* 1998; 87:764-8.
79. Policy statement: Task force on cerebral palsy and neonatal asphyxia (part 1). *J SOGC* 1996; 18:1267-79.
80. Sarnat HB, Sarnat MS. Neonatal encephalopathy following fetal distress. *Arch Neurol* 1976; 33:696-705.
81. Murahovschi J. Procedimentos Técnicos em Pediatria. In: Murahovschi J. *Emergências em Pediatria*. 4 ed. São Paulo: Sarvier; 1984. p.53-54.

82. Reis JB, Bei A, Reis Filho JB. Líquido Cefalorraquiano. São Paulo: Sarvier; 1980.
83. Ravel, R. Exame do líquido cefalorraquiano e distúrbios neurológicos. In: Ravel, R. Laboratório Clínico – Aplicações Clínicas dos Dados Laboratoriais. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.
84. Statistica<sup>®</sup>: Programa informático para cálculos estatísticos. Copyright<sup>©</sup> 1984-1998 pela Stat. Soft. Inc.
85. Stewart D. The normal cerebrospinal fluid in children. Arch Dis Child 1928; 3:96-108.
86. Diniz EMA, Spina-França Netto A, Livramento JÁ, Machado LR, Castilho EA, Corradini HB, Vaz FAC. Líquido cefalorraquídeo de recién nacidos pretérmino durante el período neonatal. I. Aspectos bioquímicos. Bol Méd Hosp Infant Méx 1982; 39(4): 253-7.
87. Diniz EMA, Spina-França Netto A, Livramento JÁ, Machado LR, Castilho EA, Corradini HB, Vaz FAC. Líquido cefalorraquídeo de recién nacidos pretérmino durante el período neonatal. II Estudio citomorfológico. Bol Méd Hosp Infant Méx 1982; 39(6): 409-12.
88. Diniz EMA, Spina-França Netto A, Livramento JÁ, Machado LR, Castilho EA, Corradini HB, Vaz FAC. Líquido cefalorraquídeo de recién nacidos pretérmino durante el período neonatal. III Estudio proteínico. Bol Méd Hosp Infant Méx 1982; 39(7): 473-76.
89. Luz BR. Composição do líquido cefalorraquiano do recém-nascido normal. Arq Neuropsiquiatr (S. Paulo) 1975; 33: 200-209.
90. Vaz FAC, Livramento JA, Spina-França A. Líquido cefalorraquiano no recém nascido pré-termo sadio. Arq neuropsiquiatr 1977; 35:183-188.
91. Vaz FAV, Diniz EMA, Livramento, Spina-França A. Análise do líquido cefalorraquiano no período neonatal. In: Vaz FAC. Problemas Neurológicos do Recém-nascido. São Paulo: Sarvier; 1985. p.59-72.
92. Shah P, Riphagen S, Beyene J, Perlman M. Multiorgan dysfunction in infants with post-asphyxial hypoxic-ischemic encephalopathy. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2004; 89:F152-F155.
93. Inder TE, Hunt RW, Morley CJ, Coleman L, Stewart M, Doyle LW, Jacobs SE. Randomized trial of systemic hypothermia selectively protects the cortex on MRI in term hypoxic-ischemic encephalopathy. J Pediatr 2004; 145:835-837.

94. Hall RT, Hall FK, Daily DK. High-dose Phenobarbital therapy in term newborn infants with severe perinatal asphyxia: a randomized, prospective study with three-year follow-up. *J Pediatr* 1998; 132(2):345-8.
95. Perlman JM. Markers of asphyxia and neonatal brain injury. *N Engl J Med* 1999; 341(5):364-5
96. Jenik AG, Ceriani Cernadas JM, Gorenstein A, Ramirez JA, Vain N, Armadans M, Ferraris JR. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of the effects of prophylactic theophylline on renal function in term neonates with perinatal asphyxia. *Pediatrics* 2000; 105(4):E45.
97. National Institute of Child Health and Human Development Research Planning Workshop. Electronic fetal heart rate monitoring: research guidelines for interpretation. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177:1385-90.
98. Anderson AK. A further complication of meconium stained liquor in the newborn. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2002; 86(1):F64.
99. Clark SL, Hankins GVD. Temporal and demographic trends in cerebral palsy-fact and fiction. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188:628-33.
100. Gutiérrez LJ, Izaguirre JC. Características del líquido cefalorraquídeo em la etapa neonatal. *Bol Méd Hosp Infant Méx* 1977; 34: 537-542.
101. Svenningsen NW, Siesjo BK. Cerebrospinal fluid lactato/pyruvate ratio in normal and asphyxiated neonates. *Acta Paediatr Scand* 1972; 61:117-124.
102. Gallagher EJ, Rodriguez K, Touger M. Agreement between peripheral venous and arterial lactate levels. *Ann Emerg Med* 1997; Apr 29(4):479-83.
103. Saugstad OD. Is lactate a reliable indicator of tissue hypoxia in the neonatal period? *Acta Paediatr* 2002; 91(1):17-19.
104. McGuinness GA, et al. CSF lactate levels in neonates: effect of asphyxia, gestacional age, and postnatal age. *Am J Dis Child* 1983; 137:48.
105. Shirey T, Pierre JS, Winkelman J. Cord lactate, pH, and blood gases from healthy neonates. *Gynecol Obstet Invest* 1996; 41:15-19.
106. Ment LR, Bada HS, Barnes P, Grant PE, Hirtz D, Papile LA, Pinto-Martin J, Rivkin M, Slovis TL. Practice parameter: neuroimaging of the neonate. *Neurology* 2002; 58:1726-38.
107. Huppi PS. Advances in postnatal neuroimaging: relevance to pathogenesis and treatment of brain injury. *Clin Perinatol* 2002; 29:827-56.

108. Scher MS. Neonatal encephalopathies as classified by EEG-sleep criteria: severity and timing based on clinical/pathologic correlations. *Pediatr Neurol* 1994; 11: 189-200.
109. Shalak LF, Luptook AR, Velaphi SC, Perlman JM. Amplitude-integrated electroencephalography coupled with an early neurologic examination enhances prediction of term infants at risk for persistent encephalopathy. *Pediatrics* 2003;111:351-357.
110. Johnson, R A, Wichern, D W. *Applied Multivariate Statistical Analysis*. 4ed. USA: Prentice Hill, 1998.
111. Salhab W, Wyckoff MH, Luptook AR, Perlman JM. Initial hypoglycemia and neonatal brain injury in term infants with severe fetal acidemia. *Pediatrics* 2004; 114:361-6.
112. Mathew OP, Bland HE, Pickens JM, et al. Hypoglycorrhachia in the survivors of neonatal intracranial hemorrhage. *Pediatrics* 1979; 63:851.
113. Procianoy RS, Cecin SKG. Relação glicorraquia glicemia em recém-nascidos com encefalopatia hipóxico-isquêmica. *J Pediatr (Rio de J)*; 1983; 55:375-6.
114. Bonadio WA, Smith DS, Goddard S, Burroughs J, Khaja G. Distinguishing cerebrospinal fluid abnormalities in children with bacterial meningitis and traumatic lumbar puncture. *J Infect Dis* 1990; 162:251-254.
115. Porter FL, Miller JP, Cole FS, Marshall RE. A controlled clinical trial of local anesthesia for lumbar puncture in newborns. *Pediatrics* 1991; 88: 663-669.
116. Reis JB, Lemmi O. Sobre as causas de insucesso na obtenção do líquido cefalorraquiano cisternal e lombar. *Arq Neuro-psiquiatr (S Paulo)* 1950; 8:182-186.
117. Bonadio WA, Smith DS, Metrou M, Dewitz B. Estimating lumbar-puncture depth in children. *N Engl J Med* 1988:952-953.
118. Rossitti, SL, Araujo JFM, Sperlescu A, Balbo RJ. Observações sobre o deslocamento da dura-mater nas punções cisternais laterais. *Arq Neuropsiquiatr* 1990; 48:469-472.
119. Jekel JF, Elmore JG, Katz DL. Análise Bivariada. In: *Epidemiologia, bioestatística e medicina preventiva*. Porto Alegre: Artemed; 1999. p.156-177.
120. Anagnostakis D, Mandyla H, Damianos D. The pediatric forum: cerebrospinal fluid protein concentration in full-term neonates. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2001; 155: 618-619.
121. Swaiman KF. Spinal fluid examination. In: Swaiman KF. *Pediatric Neurology. Principles and Practice*. 2 ed. St. Louis: Mosby; 1994. p. 123-30.



122. Ramos JLA, *et al.* Fisiologia do feto e do recém-nascido. Adaptação perinatal. In: Marcondes E, Vaz FAC, Ramos JLA, Okay Y. *Pediatria Básica*. 9 ed. São Paulo: Sarvier, 2002. p. 266-276.
123. Ben HM, Hentati F. Charcot's Disease. *Rev Neurol (Paris)* 1984; 140(3): 202-6.
124. Avery GB, Fletcher MA, MacDonald MG. *Neonatologia – Fisiopatologia e Tratamento do Recém-nascido*. 4 ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1999.
125. Alves Filho N, Corrêa MD. *Manual de Perinatologia*. Rio de Janeiro: Medsi-Editora Médica e Científica; 1990.p.1024.
126. Kopelman BI, *et al.* *Diagnóstico e Tratamento em Neonatologia*. São Paulo: Atheneu, 2004.

## 8 . NORMAS ADOTADAS

### **Ficha Catalográfica** (descritores)

BIREME – Centro Latino-Americano e do Caribe de Informações em Ciências da Saúde.  
DeCs – Descritores em Ciências da Saúde: lista alfabética. 2 ed. Ver Amp São Paulo:  
BIREME, 1992.111p.

### **Relatório:**

Normas para elaboração de Dissertação de Curso de Mestrado em Ciências Médicas.  
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Mestrado em  
Ciências Médicas. Florianópolis – SC, 2001.

D'Acampora AJ. Investigação experimental – do planejamento à redação final.  
Florianópolis: Papa Livro, 2001.

### **Referências:**

Normas do Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (Vancouver).  
International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts  
submitted to biomedical journals. Ann Inter Med 1997; 126: 36-47.

## **APÊNDICES**

## APÊNDICE I

### PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO CLÍNICA

Mãe- \_\_\_\_\_ registro - \_\_\_\_\_  
Idade \_\_\_\_\_ G \_\_\_\_\_ P \_\_\_\_\_ A \_\_\_\_\_ C \_\_\_\_\_ Natimortos \_\_\_\_\_ Filhos Vivos \_\_\_\_\_  
ITU \_\_\_\_\_ HAS \_\_\_\_\_ DHEG \_\_\_\_\_ Drogas \_\_\_\_\_ TORCHS \_\_\_\_\_ qual \_\_\_\_\_  
Doenças anteriores e evolução \_\_\_\_\_  
Complicações da gestação \_\_\_\_\_  
Quando \_\_\_\_\_ Medicação usada \_\_\_\_\_  
No. De consultas de pré-natal : nenhuma \_\_\_ até 6 \_\_\_ mais de 6 \_\_\_ ignorado \_\_\_\_\_  
Tipo sanguíneo : A \_\_\_ B \_\_\_ AB \_\_\_ O \_\_\_ RH - ( )  
Se Rh negativo : Coombs indireto - reagente \_\_\_\_\_ não reagente \_\_\_\_\_  
VDRL - negativo \_\_\_\_\_ positivo \_\_\_\_\_ Titulo \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_\_  
Idade gestacional : cronológica \_\_\_\_\_ sem \_\_\_\_\_ ecográfica \_\_\_\_\_ sem \_\_\_\_\_  
Ruptura das membranas : no ato \_\_\_\_\_ < 18 hs \_\_\_\_\_ > 18 hs \_\_\_\_\_ dias  
Características do líquido : claro com grumos \_\_\_\_\_ sem grumos \_\_\_\_\_ meconial \_\_\_\_\_  
Hemorrágico \_\_\_\_\_

Local do Parto : hospitalar \_\_\_\_\_ domiciliar \_\_\_\_\_  
Tipo de parto - normal \_\_\_\_\_ cesárea \_\_\_\_\_ fórceps \_\_\_\_\_  
Anestesia : nenhuma \_\_\_\_\_ local \_\_\_\_\_ peri \_\_\_\_\_ raqui \_\_\_\_\_  
Se operatório: desproporção céfalo-pélvica \_\_\_\_\_ DPP \_\_\_\_\_ placenta prévia \_\_\_\_\_  
Sofrimento fetal agudo \_\_\_\_\_ aminiorrexe prematura \_\_\_\_\_  
Outros \_\_\_\_\_

Placenta \_\_\_\_\_ g com calcificação \_\_\_\_\_ sem calcificação \_\_\_\_\_

#### RN

Sexo : M \_\_\_ F \_\_\_ genitália ambígua \_\_\_\_\_  
Data Nasc. \_\_\_\_\_ Horário \_\_\_\_\_ Data Internação \_\_\_\_\_  
Apgar 1º. \_\_\_\_\_ 5º. \_\_\_\_\_ 10º. \_\_\_\_\_ IG \_\_\_\_\_ Capurro \_\_\_\_\_  
Parkim \_\_\_\_\_ sem Dubowitz \_\_\_\_\_ sem Ballard \_\_\_\_\_ Percentil \_\_\_\_\_ %  
Peso \_\_\_\_\_ Estatura \_\_\_\_\_ PC \_\_\_\_\_ PT \_\_\_\_\_  
Intercorrências no nascimento: circular cordão ( ) VPP ( ) Massagem cardíaca ( )  
Uso de drogas ( ) intubação ( ) aspiração traquéia ( ) lavagem gátrica ( )  
Outras \_\_\_\_\_  
MFC aparente : não ( ) sim ( ) \_\_\_\_\_  
Diagnóstico: RNT ( ) RNPT ( ) Rnpós-T ( ) AIG ( ) GIG ( ) PIG ( )

## APÊNDICE II

### COLETA DE DADOS – RN

RN de: \_\_\_\_\_ Registro No. \_\_\_\_\_  
Data de nascimento : \_\_\_/ \_\_\_/ \_\_\_ Hora de nascimento \_\_\_\_\_

Monitorização cardíaca neonatal ( ) normal ( ) alterada ( ) não realizada  
Líquido amniótico meconial ( ) sim ( ) não  
PH fetal \_\_\_\_\_

Apgar 1o. min \_\_\_\_\_ 5o. min \_\_\_\_\_ 10o. Min \_\_\_\_\_

Síndrome Neurológico Neonatal

Presente ( ) 12hs  
( ) 12-24 hs  
( ) 24-72 hs  
( ) após 72hs

Ausente ( )

SNAP score \_\_\_\_\_

EEG \_\_\_\_\_

USTF \_\_\_\_\_

TC Crânio \_\_\_\_\_

RNM de crânio \_\_\_\_\_

Sódio \_\_\_\_ Potássio \_\_\_\_ Cálcio \_\_\_\_ Magnésio \_\_\_\_\_

Gasometria arterial \_\_\_\_\_

Lactato \_\_\_\_\_

LCR

Data/ hora da coleta	citometria	diferencial	glicose	proteínas	Cultura bacterioscopia

## APÊNDICE III

### EXAME NEUROLÓGICO DO RECÉM-NASCIDO

#### 1-Observação no berço, sem remover a coberta:

ESTADO 1: olhos fechados, respiração regular, sem movimentos.

ESTADO 2: olhos fechados, respiração irregular, sem movimentos grosseiros.

ESTADO 3: olhos abertos, sem movimentos grosseiros.

ESTADO 4: olhos abertos, movimentos grosseiros, sem choro.

ESTADO 5: olhos abertos, movimentos grosseiros, chorando.

ESTADO 6: outros estados (coma, descrever...)

#### 2-Após remoção da coberta

a) Atividade Motora espontânea: TIPO:

I- Flexão( ) Semi-flexão( ) Extensão( )

II- Simétrica( ) Assimétrica( )

III- Ativo reativo( ) Hipoativo não reativo( ) Hiperexcitabilidade( )

b) Pele

Rosada( ) Ictérica( ) Pletórica( ) Pálida( )

#### 3-Exame físico

I- Crânio: Fontanelas: anterior= cm posterior= cm

Suturas: abertas( ) normal( ) cavalgadas( )

PC= cm

II- Olhos: Pupilas NL( ) ANL( )

Reflexo "blink" óptico NL( ) ANL( )

Reflexo "blink" acústico NL( ) ANL( )

Reflexo corneo-palpebral NL( ) ANL( )

III- Expressão facial simétrica( ) assimétrica( )

Dismorfismo: Não( ) Sim( ) Descrever:

IV- Sistema motor:

Tônus: NL( ) Hipotonia( ) hipertonia( )

Simétrico( ) assimétrico( )

Prova do xale NL( ) ANL( )

Rechaço do antebraço NL( ) ANL( )

Reflexos profundos simétricos( ) assimétricos( )

NL( ) diminuídos( ) aumentados( )

Reflexos primitivos: simétricos( ) assimétricos( )

Moro NL( ) ANL( )

Tônico-cervical NL( ) ANL( )

Preensão Palmar +( ) -( )

Preensão Plantar +( ) -( )

V- Choro: NL( ) ANL( )

## APÊNDICE IV

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Meu nome é **JÚLIO AMARO DE SÁ KONESKI**, neurologista pediátrico, residente nesta cidade, trabalho na Clínica Neurológica e Neurocirúrgica de Joinville, na Rua Plácido Olímpio de Oliveira, 1244 – telefone 3433-2525.

Estou desenvolvendo uma pesquisa científica: **“ANÁLISE DOS ACHADOS DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO EM RECÉM-NASCIDOS COM ASFIXIA PERINATAL”**. Esta pesquisa é parte do estudo para elaboração da dissertação de Mestrado em Ciências Médicas, pela Universidade Federal de Santa Catarina, e já foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas em Seres Humanos, da Universidade Federal de Santa Catarina e da Maternidade Darci Vargas.

O objetivo desta pesquisa é determinar se: a) alterações no líquido (líquido que existe dentro da coluna vertebral, e que é produzido no cérebro) podem ajudar no diagnóstico e prognóstico dos recém-nascidos que sofreram asfixia (falta de oxigenação ao nascer); b) ajudar a diferenciar quando um recém-nascido sofreu asfixia se ele tem infecção (meningite); c) este estudo é necessário porque não há nenhuma pesquisa na literatura médica que defina qual o padrão para o líquido de recém-nascido asfisiado.

Os recém-nascidos que sofrem asfixia (falta de oxigenação) ao nascimento, apresentam uma série de complicações neurológicas, tanto no período logo após o nascimento, quanto seqüelas neurológicas futuras. O diagnóstico da asfixia é importante para que medidas terapêuticas possam ser prontamente iniciadas.

Sabemos como interpretar o resultado do líquido em recém-nascidos saudáveis, e sabe-se também, quais as alterações que deveremos encontrar num recém-nascido com infecção do sistema nervoso (meningite). Porém, não se sabe se há ou não alteração no líquido de recém-nascidos que sofreram asfixia ao nascer, mas há indícios na literatura de que devem ocorrer mudanças neste padrão. Possíveis alterações no líquido de recém-nascidos com asfixia podem ser interpretadas erroneamente como infecção.

A dúvida na interpretação dos resultados laboratoriais do exame do líquido pode levar a um diagnóstico inadequado de meningite, levando o médico neonatologista a tratar uma meningite inexistente, ou deixar de tratar quando realmente há a presença da infecção, especialmente quando estiver diante de bebe que sofreu asfixia ao nascer.

Portanto, solicito a permissão para realizar a punção lombar para a coleta do líquido. Este procedimento é rápido, seguro, e não traz nenhum risco especial, podendo causar algum leve desconforto passageiro – será introduzida uma pequena agulha (apropriada para este procedimento) junto a coluna vertebral, na região lombar, após o bebê ter sido submetido a anestesia local, em seguida é colhido 2 ml de líquido. Este procedimento dura em torno de 3 a 5min, e será realizado por mim, que possuo grande experiência na realização de punções lombares. Esperamos poder definir com maior clareza o prognóstico evolutivo de seu filho.

Se você tiver alguma dúvida em relação ao estudo ou não quiser mais fazer parte do mesmo, pode entrar em contato conosco. Se você estiver de acordo em participar, posso garantir que as informações fornecidas serão confidencial (bem como o material coletado) e só serão utilizados nesta pesquisa.

---

Júlio Amaro de Sá Koneski – Pesquisador principal  
Neurologista Infantil, CRM 4782

### **CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO**

Eu, \_\_\_\_\_, fui esclarecido sobre a pesquisa “ANÁLISE DOS ACHADOS DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO EM RECÉM-NASCIDOS COM ASFIXIA PERINATAL” e concordo que os dados de meu filho recém-nascido \_\_\_\_\_ e meus dados sejam utilizados na realização da mesma.

Joinville, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_.

Assinatura: \_\_\_\_\_ RG: \_\_\_\_\_



## APÊNDICE V

**TABELA 9.** Comparação dos resultados da citometria total e diferencial, entre o presente estudo e outras pesquisas que utilizaram RNT sadios. Maternidade Darci Vargas, Joinville (SC), 2004/2005.

Variável	Asfixiados	Controle	Sarff <sup>55</sup>	Bonadio <sup>39</sup>	<i>Carvalho</i> <sup>68</sup>
<b>Contagem total de leucócitos/mm<sup>3</sup>*</b>					
n	7	7	87	35	25
Média	2,28	4,14	8,2	11,0	4,5
Mediana	2,00	3,00	5,00	8,50	3,30
DP	1,38	4,18	7,1	10,43	3,6
Variação	1-4	1-13	0-32	-	0,3-13
<b>Porcentagem de LMN**</b>					
Média	98,57	95,57	39,70	97,80	95,80
Mediana	100,00	100,00	-	99,50	100,00
DP	3,77	11,28	-	3,75	8,60
Variação	90 - 100	70 - 100	-	-	60-100

\*p = 0,3924; \*\* p = 0,5338;

n = número de casos; DP = desvio padrão; LMN = linfomonócitos.

## APÊNDICE VI

**TABELA 10.** Valores normais de glicorraquia, em RN sadios, segundo diversos autores. (Valor médio de glicose em mg/dl). Maternidade Darci Vargas, Joinville (SC), 2004/2005.

Variável	Asfixiados*	Controle*	Sarff <sup>55</sup>	Bonadio <sup>39</sup>	<i>Carvalho</i> <sup>68</sup>
<b>Glicose (mg/dl)</b>					
n	7	7	51	35	25
Média	55,57	37,57	52	46,0	67
Mediana	50,00	35,00	-	-	-
DP	28,13	11,32	-	10,30	25,60
Variação	30 – 117	24 – 60	34-119	-	38-179

\*p = 0,0730

n = número de casos; DP = desvio padrão.

## APÊNDICE VII

**TABELA 11.** Comparação dos valores médios da proteinorraquia entre os dois grupos do presente estudo, e outras pesquisas que utilizaram RNT sadios. (Proteínas em mg/dl). Maternidade Darci Vargas, Joinville (SC), 2004/2005.

<b>Pesquisa</b>	<b>n</b>	<b>Média</b>	<b>Varição (máximo-mínimo)</b>
Presente estudo			
Asfixiados*	7	47,57	38,0-65,0
Controle	7	88,57	52,0-165,0
Sarff <i>et al.</i> <sup>55</sup>	35	90,0	20-170
Bonadio <i>et al.</i> <sup>39</sup>	35	84,0	-
Carvalho <i>et al.</i> <sup>68</sup>	25	77,6	29-160
Ahmed <i>et al.</i> <sup>57</sup>	17	80,0	-
Luz <sup>89</sup>	79	71,0	23,1-119,7

\* p = 0,0087

## **ANEXOS**

## **ANEXO I**

**Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos - UFSC**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS**  
Parecer Consubstanciado Projeto nº 332/2004

I - Identificação

Data de entrada no CEP: 22/11/2004  
Título do Projeto: ANÁLISE DOS ACHADOS DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO EM RECÉM-NASCIDOS COM SÍNDROME HIPÓXICO-ISQUÊMICA.  
Pesquisador Responsável: Luiz Roberto Ágea Cútulo.  
Pesquisador Principal: Julio Amaro de Sá Koneski  
Propósito: Projeto de mestrado.  
Instituição onde se realizará: Maternidade Darcy Vargas – Joinville -SC

II- Objetivos: Geral: Descrever os achados bioquímicos e celulares do líquido cefalorraquidiano nos recém nascidos que apresentarem síndrome hipóxico-isquêmica, nascidos na Maternidade Darcy Vargas (MDV), de Joinville, SC, e determinar sua relevância no diagnóstico da SHI, bem como procurar identificar fatores indicativos de prognóstico quando comparados com outros métodos diagnósticos conhecidos.  
Específicos: Não relacionados.

III- Sumário do Projeto: Este é um estudo transversal e observacional. Os pesquisadores estimam 30 recém natos que estejam dentro dos vários critérios de inclusão para a seleção dos pacientes. Será formado um grupo controle de recém natos nascidos após um dos bebês que estejam incluídos no grupo de estudo e que tenham feito punção lombar pelo pediatra neonatologista assistente que tenham sido objeto de suspeita de ter sofrido asfixia ao nascer. Os protocolos estão incluídos no material apresentado.

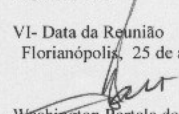
IV- Comentários: Trata-se de uma pesquisa com fins acadêmicos (dissertação de mestrado), mas escrito economicamente, sobretudo pela importância do tema. Tem uma importância social indiscutível, mas o julgamento do projeto está prejudicado, sobretudo por alguns aspectos: falta os currículos do professor orientador e do co-orientador; falta esclarecimentos se os "exames de imagem ...serão solicitados se houver indicação clínica" mas não refere se seria a conduta mesmo se não fizessem parte da amostra. No caso, esclarecer quem arcará com os custos; Reformular a folha de rosto, cujo pesquisador responsável está como o orientando; falta a assinatura do pesquisador responsável na declaração de responsabilidade; esclarecer se a coleta de dosos já foi iniciada, uma vez que o projeto não foi aceito para análise da primeira vez por carecer da folha de rosto e o cronograma deve ser reformulado, se for o caso e, finalmente, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) está eivado de termos técnicos além de descrever brevemente o procedimento de punção lombar e salvo melhor juízo, minimizando os riscos e desconfortos do dito procedimento.

V- Parecer: Pelo exposto, somos de parecer que o projeto fique em pendência até que sejam satisfeitas as exigências deste Comitê.

VI – Parecer final – Tendo em vista o atendimento das pendências, somos de parecer que o presente projeto seja **APROVADO** por este Comitê.

- Aprovado ( x )
- Aprovado "ad referendum" ( )
- Aprovado e encaminhado ao CONEP ( )
- Com pendências ( )
- Reprovado( )

VI- Data da Reunião  
Florianópolis, 25 de abril de 2005

  
Washington Portela de Souza  
Coordenador em exercício

Fonte: CONEP/ANVS - Resoluções 196/ 96 e 251/ 97 do CNS.

## **ANEXO II**

**Parecer do Comitê de Ética da Maternidade Darci Vargas**



ESTADO DE SANTA CATARINA  
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE  
COORDENADORIA DE ADMINISTRAÇÃO HOSPITALAR  
DIRETORIA DA MATERNIDADE DARCY VARGAS

Ofício nº 1267/02

Joinville, 17 de Dezembro 2002.

Ao  
Dr. Júlio Amaro de Sá Koneski  
Nesta.

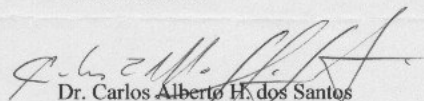
Ref.: Projeto de Pesquisa

Comunicamos que a solicitação de Vossas Senhorias para realização de trabalho científico ( Projeto de Pesquisa) com o Título "**ANÁLISE DOS ACHADOS DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO NOS RECÉM-NASCIDOS COM SÍNDROME HIPÓXICO-ISQUÊMICO**", foi avaliado pela Comissão de Ética desta Unidade Hospitalar e o mesmo foi APROVADO, conforme folha anexa. - Protocolo N°

Solicitamos que quando da conclusão do referido projeto, uma cópia deverá ser encaminhada à Direção Clínica.

Permanecendo ao dispor, subscrevemo-nos,

Atenciosamente.

  
Dr. Carlos Alberto H. dos Santos  
Diretor Clínico



### ANEXO III

**TABELA 12.** Valores médios entre os resultados encontrados por várias pesquisas, para os principais parâmetros liquorícos de recém-nascidos. Dados expressos em média e variação (mínimo / máximo).

Autores	n	Citometria (leucócitos/mm <sup>3</sup> )	Proteínas (mg/dl)	Glicose (mg/dl)
SARFF <i>et al.</i> , <sup>55</sup>	TERMO	7,7	75	51
RODRIGUEZ <i>et al.</i> <sup>56</sup>	330	(0-130)	(20-150)	(32-119)
AHMED <i>et al.</i> <sup>57</sup>				
NAIDOO <i>et al.</i> <sup>58</sup>				
PORTNOY <i>et al.</i> <sup>59</sup>	PT	7	128	55
KAISER <i>et al.</i> <sup>60</sup>	73	(0-44)	(65-370)	(24-217)

## ANEXO IV

**TABELA 13.** Citações utilizadas como padrão de normalidade para LCR de RN, por diversos livros textos de neurologia neonatal, neonatologia, neurologia e pediatria.

Livro (autor principal)	Referência utilizada	n		Idade (no momento da coleta do LCR)
		T	PT	
Volpe <sup>23</sup>	Sarff <i>et al.</i> , <sup>55</sup>	36	87	0-7 dias de vida
	Rodriguez <i>et al.</i> , <sup>56</sup>	-	(43 – MBP)	0-12 semanas
Avery <sup>124</sup>	Sarff <i>et al.</i> , <sup>55</sup>	36	87	0 – 7 dias
Fanarrof <sup>26</sup>	Naidoo, <sup>58</sup>	135 RNT saudáveis	-	24h (n=135) 24h e 2ª. PL com 7 dias (n=20)
Menkes <sup>22</sup>	Ahmed <i>et al.</i> , <sup>28</sup>	108 Suspeita não confirmada de infecção do SNC	-	0 – 30 dias
Swaimann <sup>121</sup>	Kaiser, Whitelaw, <sup>60</sup>	49 RN T e PT	-	< 100 dias
	Portnoy , Olson, <sup>59</sup>	64 RNT e PT		< 6 semanas
Navantino Alves <sup>125</sup>	Naidoo, <sup>58</sup>	Idem acima		Idem acima
Kopelmann <sup>126</sup>	Naidoo, <sup>58</sup> Sarff <i>et al.</i> , <sup>55</sup> Rodriguez, <i>et al.</i> , <sup>56</sup>	Idem acima		Idem acima

T: RN a termo; PT : RN prematuro; MBP: Muito baixo peso; PL: Punção lombar

## ANEXO V

**TABELA 14.** Valores normais de proteinorraquia, em RN sadios, conforme variação de idade, segundo diversos autores. (Valor médio, em mg/dl).

<b>Autor</b>	<b>RNPT</b>	<b>RNT</b>
Carvalho <i>et al.</i> <sup>68</sup>	101,2	77,6
Sarff <i>et al.</i> <sup>55</sup>	115	90,0
Bonadio <i>et al.</i> <sup>39</sup>	-	<b>0-4 semanas</b> 84,0 <b>4-8 semanas</b> 59,0
Luz <sup>89</sup>	-	<b>2°.dia</b> 71,0 <b>7°.dia</b> 69,0
Ahmed <i>et al.</i> <sup>57</sup>	-	<b>0-15 dias</b> 69,0-80,0 <b>15-30 dias</b> 54,0-59,0

## ANEXO VI

**TABELA 15.** Relação de diversas pesquisas com coleta de LCR em RN asfixiados a termo, demonstrando o que foi tempo necessário para obtenção da amostra, e o número de casos e controles.

Referência	Estudo	N		Período
		casos	controle	
Silveira <sup>32</sup> , Porto Alegre 2003	IL-6 e TNF	15	20	julho/99-outubro/01 (2anos e 3 meses)
Florio <sup>31</sup> , Itália 2004	Activin A	30	44	abril/98-junho/02 (4 anos e 2 meses)
Procianoy <sup>113</sup> , Porto Alegre, 1983	Relação glicemia/glicorraquia	12	13	julho/80-dezembro/82 (2 anos e 6 meses)
Inder <sup>93</sup> , Austrália 2004	Hipotermia / ressonância	26	n.r.*	julho/01-junho/03 (1 ano e 11 meses)
Tegkul <sup>47</sup> , Turquia 2004	Marcadores bioquímicos	21	n.r.	janeiro/97-dezembro/01 (4 anos e 10 meses)
Shah <sup>92</sup> , Canadá 2004	Asfixia e disfunção múltiplos órgãos	130	n.r.	1985-1995 (10 anos)
Ergenekon <sup>30</sup> , Turquia 1999	Ácido Nítrico no LCR	17	n.r.	janeiro/97-fevereiro/98 (1 ano e 1 mês)
Ezgü <sup>48</sup> , Turquia 2002	Enolase neurônio específico e neuroimagem	26	8	novembro/96-março/98 (1 ano e 4 meses)
Ogihara <sup>33</sup> , Japão 2003	Geração de radicais hidroxil e NPB	10	12	abril/99-março/01 (2 anos e 1 mês)

\*n.r.: não realizado; IL – 6 : interleucina 6; TNF: fator de necrose tumoral; NPB: *non-protein-bound*.