

FERNANDA MACHADO REGAZZI

*Efeito da corticoterapia materna antenatal e pós-natal
em cordeiros prematuros extremos*

São Paulo
2015

FERNANDA MACHADO REGAZZI

Efeito da corticoterapia materna antenatal e pós-natal em cordeiros prematuros extremos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:
Reprodução Animal

Área de concentração:
Reprodução Animal

Orientador:
Profa. Dra. Camila Infantsi Vannucchi

Coorientador:
Profa. Dra. Claudia Barbosa Fernandes

São Paulo
2015

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.3250 FMVZ	<p>Regazzi, Fernanda Machado Efeito da corticoterapia materna antenatal e pós-natal em cordeiros prematuros extremos / Fernanda Machado Regazzi. -- 2015. 93 f. il.</p> <p>Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 2015.</p> <p>Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.</p> <p>Área de concentração: Reprodução Animal.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Luciano Freitas Felício.</p> <p>Coorientador: Profa. Dra. Cláudia Barbosa Fernandes.</p> <p>1. Corticoterapia. 2. Cordeiros. 3. Assistência ventilatória. 4. Prematuros. 5. Betametasona. I. Título.</p>
----------------	--

BIOÉTICA



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado “Estudo do desempenho clínico de cordeiros prematuros submetidos a distintos protocolos de assistência ventilatória imediata ao parto”, protocolado sob o nº 2981/2013, utilizando 55 (cinquenta e cinco) cordeiros, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Camila Infantsi Vannucchi, foi aprovado em reunião de 26/6/2013 e está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

We certify that the Research “Clinical performance of premature lambs subjected to different protocols of mechanical ventilation immediately after birth”, protocol number 2981/2013, utilizing 55 (fifty five) lambs, under the responsibility Profa. Dra. Camila Infantsi Vannucchi, was approved in the meeting of day 6/26/2013 and agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Ethic Committee in the Use of Animals of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo.

São Paulo, 15 de julho de 2013.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: REGAZZI, Fernanda Machado

Título: **Efeito da corticoterapia materna antenatal e pós-natal em cordeiros prematuros extremos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

Meus primeiros agradecimentos não poderiam ser a outros se não àqueles que me acompanharam e apoiaram em todas as conquistas, batalhas, alegrias e tristezas nos últimos 7 anos... aos meus amigos de convívio diário... integrantes da nossa família LIAPP... sinto este trabalho um pedacinho de cada um. A vocês expresso minha gratidão pelas noites de plantão, trabalhando ou dormindo ao meu lado, pelo auxílio na organização pré e pós-experimento, pelas compras de materiais, cuidados com os nossos neonatos e gestantes, pelos colchões e roupas de cama cedidos, pelos lanches e pizzas compartilhadas nas “reuniões” de corredor, pelas risadas, brainstorms e árduo trabalho noturno.

Agradeço por me completarem nas diferenças

Neste contexto cito, em primeiro lugar, o ponto de equilíbrio e sustentação desta família, minha orientadora Profa. Dra. Camila Infantsi Vannucchi, que não se cansa de nos surpreender com sua dedicação, paciência, disponibilidade, ensinamentos profissionais e pessoais... agradeço o incentivo, oportunidade, compreensão em todos os momentos, também por ser um exemplo de humanidade, liderança e competência. Obrigada por me dar a oportunidade de ser e ter o que sonhei. Agradeço também aos outros membros da família... Cristina de Fátima Lúcio, por ser a amiga de todas as horas, exemplo de profissional e grande conselheira; Daniel Angrimani, pelo empenho, companheirismo e entusiasmo; Maíra Brito, pela sinceridade, disponibilidade e amizade; Renata Abreu, mesmo recém chegada ao grupo, se tornou uma amiga e plantonista para todas as horas; Cláudia Pereda, pela dedicação, compreensão e análises laboratoriais; às “minhas adotadas” alunas de iniciação científica, Ana Beatriz Giraldo Vidal e Beatriz Melo Justo, obrigada pela dedicação, companheirismo e paciência; Prof. Marcílio Nichi, pelo ensinamento diário de simplicidade, amizade e bondade, pela elaboração do delineamento e análise estatística deste e outros trabalhos; à Profa. Cláudia Barbosa Fernandes, pelo carinho nas palavras e atitudes, ensinamentos e por aceitar me coorientar na execução deste experimento; agradeço também às minhas eternas irmãs Gisele Veiga, pela amizade sincera, pelos ensinamentos e

parcerias nos trabalhos com neonatologia, e Liege Cristina Garcia (Lica) minha eterna amiga, parceira, confidente e conselheira.

Foi uma grande honra crescer ao lado de vocês

Agradeço também...

...aos estagiários, em especial ao Roberto Rodrigues e Letícia de Almeida, por serem meu braço direito nos partos que auxiliaram.

À professora Aline Magalhães Ambrósio, pelo incentivo e por prover meios para o desenvolvimento deste estudo. O empréstimo de equipamentos de ventilação e sua equipe foram fundamentais para a conclusão deste trabalho. Em especial ao Alessandro Martins, por nos ajudar com extrema competência, dedicação e carinho. Seu modo de atuar tornou o trabalho intensivista uma de minhas mais novas paixões; ao Amadeu B. S. Neto Lucas de Angelis Côrtes, Felipe S. R. M. Andrade, pela alegria em colaborar, gentileza, ensinamentos e apoio no cumprimento das manobras ventilatórias neonatais. Adorei trabalhar com vcs!

À todos os residentes e estagiários do Hospital de Ruminantes (FMVZ/ USP) em especial ao Mailson, pela paciência, carinho, prontidão e grande competência; à Camila Martin, pela exímia conduta, atenção e colaboração, à Marcela Romanini Faria, pela dedicação e ensinamentos, Joel A. F. Ojeda, pelo forma amiga e competente de colaborar, ao Pedro Rubens B. Muller, sempre doce, solícito e preciso em suas decisões, a quem tenho um carinho muito especial, haja vista ter participado na sua formação profissional. E a todos os outros residentes e estagiários que durante estes quatro anos colaboraram de forma pontual, mas extremamente importante nos cuidados clínicos com as gestantes e os neonatos.

Àquela que é acalento, refúgio, fonte de energia e entusiasmo para todas as minhas decisões...à minha mãe Clea Maria Machado...meu real porto seguro. Sou grata pelos conselhos, pelo incansável e muitas vezes incompreensível apoio. Você é cúmplice e responsável por muito do que sou.

Ao meu pai, Evanildo Regazzi, por simplesmente amar... sem nunca cobrar... por ser exemplo de doçura e paciência.

Aos meus irmãos, Edilson, Mayra e Kauê, por serem fonte de energia, conforto, parceria e cumplicidade. Tudo é muito melhor com vocês!

A toda minha família, tios, tias e primos, e minha linda afilhada, pelo exemplo de união, companheirismo e amor.

Ao meu noivo, Felipe Aloisi, por mesmo frente ao novo, ao desconhecido estar sempre comigo... por se preocupar em me fazer sorrir, pelas noites mal dormidas no LIAPP, pois o que importava era estar ao meu lado. Obrigada por se fazer sempre presente.

Às minhas amigas Jaqueline Aguiar, pela confiança e amizade sincera, que, em muitos momentos, foi minha haste de sustentação em meio à árdua rotina de trabalho, à Bruna de Oliveira, por me conhecer tão bem e dividir momentos de alegria e tristeza; à Thayná Gardèz, pela doçura e apoio... nossa amizade se arraiga por pura sintonia.

Aos meus amigos e amigas de Campinas, Karina Bertoli, Rodrigo Rocha, Daniela Bertoli, Rogério, Wagner Bertoli, Mariana Arnold, Alan, Kemely Yenerall e Márcia de Oliveira, por provarem a cada dia, a cada encontro o quão nobres e valorosas são nossas amizades.

Às minhas “meninas” ovelhas, por contribuírem de forma doce e afetuosa no cumprimento deste projeto.

Aos professores do Departamento, pelos ensinamentos, oportunidades e estímulos. Em especial à Profa. Mayra E. O. D. Assumpção, por ser sempre nossa grande colaboradora. Agradeço, ainda, ao prof. Dr. Fernando J. Benesi (VCM), por ter nos cedido as ovelhas, além de toda atenção e carinho; Prof. Dr. Fábio Pogliani (VCM), pelos cuidados com nossas ovelhas e cordeiros!

Aos funcionários: Iraílton, Belau, Harumi, Roberta, Thaís, Jocimar e Miguel, por contribuírem de modo ímpar no curso deste experimento. Às secretárias da pós-graduação e aos funcionários da biblioteca Virgine Buff D'Apice, em especial a Elsa Faquim, pela prontidão e competência nas correções desta tese.

A todos os amigos e companheiros de VRA, em especial a Thais Hamilton, Adriano F. P. Siqueira, Andressa Dalmazzo, Letícia S. Castro, Giulia K. V. Kawai, Bruno Rui, Patricia Rotta, pela amizade e apoio neste caminhar.

Ao Departamento de Reprodução Animal, por me acolher e me permitir fazer parte de sua história! Sinto-me lisonjeada por fazer parte deste time!

Agradeço ao CNPq pela concessão da bolsa de doutorado.

RESUMO

REGAZZI, F. M. **Efeito da corticoterapia materna antenatal e pós-natal em cordeiros prematuros extremos.** [Effect of antenatal and postnatal steroid therapy in extremely preterm lambs]. 2015. 93 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

A utilização do corticosteróide antenatal objetivando induzir artificialmente a maturação fetal e garantir a sobrevivência de neonatos críticos é bem estabelecido e rotineiramente utilizado em Medicina. Por outro lado, a utilização pós-natal de corticóide, como garantia de melhores condições clínicas do neonato, ainda figura como expressivo desafio tanto em neonatologia humana quanto veterinária. Deste modo, este estudo tem como objetivo avaliar a eficácia da corticoterapia pré ou pós-natal em cordeiros prematuros extremos na melhora da condição clínica, pulmonar, metabólica e hemodinâmica; necessidade de assistência ventilatória e na garantia de sobrevivência neonatal. Para tal, cordeiros prematuros, nascidos aos 135 dias de gestação, foram aleatoriamente alocados nos grupos: corticoterapia materna pré-natal (CORT PRÉ; n=8), corticoterapia pós-natal (CORT PÓS; n=9) e controle (CONT; n=5). A corticoterapia foi realizada com betametasona em dose única de 0,5 mg/Kg, por via de aplicação intra muscular, aos 133 dias de gestação ou aos 10 minutos após o nascimento para os grupos CORT PRÉ e CORT PÓS, respectivamente. O parto foi induzido utilizando-se o fármaco aglepristona às 49 horas prévias à data estimada para o parto. Os neonatos foram avaliados quanto ao escore Apgar, condição clínica geral (frequência cardíaca, frequência respiratória, tônus muscular e irritabilidade reflexa), temperatura corpórea, hemogasometria arterial, glicemia, lactatemia, concentrações séricas das enzimas antioxidantes (superóxido dismutase – SOD e glutatona peroxidase – GPx) e marcador do estresse oxidativo (TBARS) em 10 momentos pontuais durante os 3 dias subsequentes ao parto. Para os cordeiros destinados ao suporte ventilatório, avaliamos o tempo (em minutos) necessário para o início do protocolo ventilatório a partir do nascimento e o tempo de permanência na ventilação. Os dados foram analisados por meio de testes paramétricos e não-paramétricos, com nível de significância de 95%. As variáveis também foram submetidas ao teste de correlação de Spearman. Como resultados, observamos melhor condição de vitalidade e tônus

muscular nos neonatos tratados em relação ao grupo controle. Quanto à avaliação cardiogênica, a betametasona pré-natal apresentou efeito bradicárdico, enquanto a administração pós-natal resultou em efeito taquicárdico. Tanto os resultados de frequência respiratória como temperatura corpórea foram estatisticamente superiores nos neonatos tratados em relação ao controle. Todos os cordeiros nasceram bradicárdicos e bradipneicos, com valores normais atingidos a partir de 10 minutos. Observamos hiperglicemia nos grupos tratados, com valor estatisticamente superior no grupo CORT PÓS. O valor de lactato foi estatisticamente superior no grupo CORT PÓS em relação ao controle. Quanto aos componentes do equilíbrio ácido-básico, os neonatos do grupo CORT PRÉ tiveram valores significativamente maiores de bicarbonato, enquanto menores pressões de CO₂ foram observadas a partir de 60 minutos, embora sem diferença quanto ao pH e BE. Os tratamentos não determinaram alterações nos valores de PO₂ e SO₂. Entretanto, os diferentes protocolos corticoterápicos influenciaram no perfil hematológico neonatal, com valores significativamente maiores de hematócrito no grupo CORT PÓS, seguido pelo grupo CORT PRÉ. Observamos também atuação do tratamento pós-natal nos valores de SOD e correlação positiva com os valores de hematócrito e hemoglobina. Comparando-se o percentual de cordeiros submetidos à assistência ventilatória, verificou-se maior necessidade no grupo controle. Os neonatos do grupo CORT PRÉ permaneceram por tempo menor sob assistência ventilatória, em relação ao grupo controle. Com base nos resultados obtidos, concluímos que a corticoterapia pós-natal ou pré-natal favorece a condição clínica neonatal (vitalidade, tônus muscular e funções vitais), a função pulmonar (trocas gasosas e compensação aos desequilíbrios ácido-básicos) e a atividade metabólica (controle glicêmico). O tratamento pós-natal aumentou a atividade da enzima SOD, reduzindo os riscos de danos pulmonares. Ainda, o tratamento com betametasona pós-natal ou materna pré-natal diminui a necessidade de assistência ventilatória em cordeiros prematuros extremos.

Palavras-chave: Corticoterapia. Cordeiros. Assistência ventilatória. Prematuros. Betametasona.

ABSTRACT

REGAZZI, F. M. Effect of antenatal and postnatal steroid therapy in extremely preterm lambs [Efeito da corticoterapia materna antenatal e pós-natal em cordeiros prematuros extremos]. 2015. 93 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

The use of corticosteroid aiming artificially fetal lung maturation and survival of critical neonates is used as a routine in medicine. On the other hand, the postnatal steroid therapy used to improve clinical conditions of the newborn, It's still a therapeutic challenge both in human as veterinary neonatology. Thus, the aims this study is to assess the effectiveness of corticosteroid, used in the pre or postnatal period, in extremely preterm lambs to improve clinical, pulmonary, metabolic and hemodynamic condition; the need for ventilatory support and neonatal survival rate. For it, preterm lambs, born with 135 days of gestation, were randomly allocated into three groups: prenatal maternal corticosteroid therapy (CORT PRE; n = 8), postnatal corticosteroid therapy (CORT POST; n = 9) and control (CONT; n = 5). The steroid therapy was performed with betamethasone in a single dose of 0.5 mg/ kg, by intramuscular route of administration, at 133 days of pregnancy our after 10 minutes from the birth in the groups CORT PRÉ and CORT PÓS, respectively. The labor was induced with aglepristone administrated 49 hours prior to the estimated date of birth. Newborns were assessed by Apgar score, general medical condition (heart rate, respiratory rate, muscle tone and reflex irritability), body temperature, blood gas analysis, blood glucose, blood lactate concentration, serum concentrations of antioxidant enzymes (superoxide dismutase - SOD and glutathione peroxidase - GPx) and marker of oxidative stress (TBARS). The assessments were performed in 10 moments during the three days from delivery. For ventilated newborns, we assessed the needed time (in minutes) between birth and the beginning of ventilatory protocol, as well as lenght of stay on ventilatory support. Data were analyzed using parametric and non-parametric tests, with 95% of significance level. The variables were assessed from Spearman correlation test. As results, we noted better condition of vitality and muscle tone in newborns treated when compared with control group. Regarding cardiogenic values, antenatal betamethasone resulted in bradycardic effect, while its posnatal administration was related with tachycardia. Both results of respiratory and body temperature rates were significantly higher in newborns treated compared to the

control. All lambs born with bradycardia and bradypnea, reached normal values from 10 minutes of life. Hyperglycemia was observed in the treated groups, with statistically higher values in CORT PÓS group. The lactate value was statistically higher in CORT PÓST group compared to the control. Concerning the components of the acid-base balance, the CORT PRÉ showed significantly higher values of bicarbonate, while lower pressures of CO₂ were observed from 60 minutes, although there were no differences in pH and BE values. The treatments did not determine changes in PO₂ and SO₂ values. However, the different protocols of steroid therapy influenced on neonatal blood profile, with significantly higher hematocrit values in CORT POST group, followed by CORT PRÉ. We also observed influence of postnatal treatment in SOD values as well as positive correlation between SOD and the hematocrit and hemoglobin values. Comparing the percentage of lambs submitted to mechanical ventilation, there were most ventilated neonates in the control group. Lower ventilation time was observed in the CORT PRÉ group. Then we conclude that, the postnatal or antenatal steroids improve neonatal clinical condition (vitality, muscle tone and vital functions), lung function (gas exchange and compensation to acid-base imbalances) and metabolic activity (glycemic control). The postnatal treatment increased the activity of SOD by reducing the risks of pulmonary damage. Moreover, treatment with postnatal betamethasone or prenatal maternal reduces the need for mechanical ventilation in extremely preterm lambs.

Keywords: Glucocorticoid therapy. Lambs. Ventilation. Premature. Betamethasone.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 - Parâmetros adotados para o escore Apgar de vitalidade neonatal para ovinos.....	43
Quadro 2 - Estratégias ventilatórias e parâmetros clínicos neonatais adotados	47
Figura 1 - Neonato mantido em berço aquecedor (FANEM®) (Figura 1A) ou em baia maternidade com aquecedor ambiental (Figura 1B).....	42
Figura 2 - Conduas experimentais e momento das avaliações realizadas nos distintos grupos experimentais	42
Figura 3 - Oxigenioterapia com máscara realizada com respirador MONNAL T75® (Air Liquide) (Figura 3A) e balão auto-inflável (Ambu - Oxigel®) acoplado a um manômetro de pressão (Figura 3B)	47
Figura 4 - Respirador MONNAL T75® (Air Liquide) na modalidade PCV (Figura 4A) e cordeiro neonato prematuro sob monitorização e suporte ventilatório (Figura 4B)	49
Figura 5 - Representação gráfica do escore Apgar (0 a 10) nos distintos grupos experimentais (A) e nos tempos 0, 10 e 60 minutos (B). São Paulo - 2015	54
Figura 6 - Representação gráfica do escore de coloração de mucosas (0 a 2) nos distintos grupos experimentais (A) e nos tempos 0, 10 e 60 minutos (B). São Paulo - 2015	54
Figura 7 - Representação gráfica do escore de tônus muscular (TM) (0 a 2) e irritabilidade reflexa (IR) (0 a 2), nos distintos grupos experimentais (A) e nos tempos 0, 10 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 12h, 24h, 48h e 72 horas (B). São Paulo - 2015	55
Figura 8 - Valores de frequência cardíaca (bpm - A) e frequência respiratória (mpm - B) nos tempos 0, 10 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 12h, 24h, 48h e 72 horas do nascimento. São Paulo - 2015	56

Figura 9 - Valores de frequência cardíaca (bpm - A) e frequência respiratória (mpm - B) nos distintos grupos experimentais. São Paulo - 2015.....	56
Figura 10 - Temperatura corpórea (°C) nos distintos grupos experimentais (A) e nos tempos 0, 10 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 12h, 24h, 48h, 72 horas do nascimento (B) - São Paulo - 2015	57
Figura 11 - Glicemia (mg/dL) nos distintos grupos experimentais (A) e nos tempos 0, 10 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 12h, 24h, 48h, 72 horas do nascimento (B) - São Paulo - 2015	58
Figura 12 - Lactatemia (mmol/L) nos distintos grupos experimentais (A) e nos tempos 0, 10 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 12h, 24h, 48h, 72 horas do nascimento (B) - São Paulo - 2015	58
Figura 13 - Saturação de oxigênio (SO ₂ - %) e pressão parcial de oxigênio (pO ₂ – mmHg) entre os grupos experimentais - São Paulo - 2015.....	62
Figura 14 - Saturação de oxigênio (% - A) e pressão parcial de oxigênio (mmHg - B) ao longo dos momentos de avaliação - São Paulo - 2015	62
Figura 15 - Valores de hematócrito (%PCV - A) e hemoglobina (g/dL - B) nos distintos grupos experimentais - São Paulo - 2015	63
Figura 16 - Valores de hematócrito (%PCV - A) e hemoglobina (g/dL - B) ao longo dos momentos de avaliação - São Paulo - 2015	63
Figura 17 - Concentrações séricas de superóxido dismutase (ng/ mL- A), glutathione peroxidase (UI/ mL - B) e TBARS (ng/ mL – C) nos diferentes grupos experimentais - São Paulo – 2015.....	64
Figura 18 - Concentração da SOD (ng/mL – A), GPX (UI/mL – B) e TBARS (ng/mL – C) ao longo dos momentos de avaliação - São Paulo - 2015	65
Figura 19 - Percentual (%) de neonatos submetidos à assistência ventilatória, nos diferentes grupos experimentais - São Paulo - 2015.....	65
Figura 20 - Tempo de permanência na ventilação (min) nos diferentes grupos experimentais - São Paulo - 2015	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de probabilidade (p) para os efeitos principais momentos de avaliação (0 vs. 5 a 10 vs. 60min vs. 2h vs. 3h vs. 4h vs. 12h vs. 24h vs. 48h vs. 72h) e grupos experimentais (CORT PRÉ vs. CORT PÓS vs. CONT) e sua interação para a avaliação neonatal - São Paulo - 2015.....	53
Tabela 2 - Valores de probabilidade (p) para os efeitos principais momentos de avaliação (0 vs. 5 a 10 vs. 60min vs. 2h vs. 3h vs. 4h vs. 12h vs. 24h vs. 48h vs. 72h) e grupos experimentais (CORT PRÉ vs. CORT PÓS vs. CONT) e sua interação para a avaliação neonatal - São Paulo - 2015.....	57
Tabela 3 - Valores de probabilidade (p) para os efeitos principais momentos de avaliação (0 vs. 5 a 10 vs. 60min vs. 2h vs. 3h vs. 4h vs. 12h vs. 24h vs. 48h vs. 72h) e grupos experimentais (CORT PRÉ vs. CORT PÓS vs. CONT) e sua interação para a avaliação neonatal - São Paulo - 2015.....	59
Tabela 4 - Média e erro padrão dos valores de HCO ₃ ⁻ (mmol/L), BE (mmol/L) e pH nos diferentes grupos experimentais - São Paulo – 2015.....	60
Tabela 5 - Média e desvio padrão dos valores de HCO ₃ ⁻ (mmol/L), BE (mmol/L) e pH, ao longo dos momentos de avaliação - São Paulo – 2015	60
Tabela 6 - Média e erro padrão dos valores pCO ₂ (mmHg) entre os grupos ao longo dos momentos de avaliação - São Paulo – 2015	61
Tabela 7 - Correlação de Spermán para os neonatos do grupo CORT PÓS – São Paulo - 2015.....	67
Tabela 8 - Correlação de Spermán para os neonatos do grupo controle – São Paulo - 2015.....	68
Tabela 9 - Correlação de Spermán para os neonatos do CORT PRÉ – São Paulo - 2015.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DBP	Displasia Broncopulmonar
Apgar	Escore de vitalidade Apgar
BE	<i>Base excess</i>
PEEP	Pressão Expiratória Final Positiva
P-SIMV	Ventilação Mandatória Intermitente Sincronizada a Pressão
SIMV	Ventilação Mandatória Intermitente Sincronizada
°C	Graus Celsius
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
M	Coloração de mucosa
CORT PRÉ	Grupo corticoterapia materna pré-natal
CORT PÓS	Grupo corticoterapia pós-natal
CONT	Grupo controle
Hb	Hemoglobina
CO ₂	Dióxido de Carbono
IMV	Ventilação Mandatória Intermitente
EROs	Espécies reativas de oxigênio
O ₂ ⁻	Anion superóxido
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
OH ⁻	Radical hidroxila
SOD	Superóxido dismutase
CAT	Catalase
GPx	Glutathione peroxidase
HCO ₃	Bicarbonato
IM	Intra-muscular
IR	Irritabilidade reflexa
Kg	Quilograma
FC	Frequência cardíaca
FR	Frequência respiratória
T4	Hormônio tiroxina

T3	Hormônio tri-iodotironina
cmH ₂ O	Centímetros de água
MG	Miligrama
mL	Mililitro
mmHg	Milímetros de mercúrio
n	Número
µg	Micrograma
O ₂	Oxigênio
pCO ₂	Pressão arterial de dióxido de carbono
pO ₂	Pressão arterial de oxigênio
CEC	Células epiteliais cilíndricas
mcg	Micrograma
SRD	Síndrome do Desconforto Respiratório
SO ₂	Saturação de oxigênio
TM	Tônus muscular
UTIs	Unidades de Terapia Intensiva

LISTA DE SÍMBOLOS

- > Maior
- < Menor
- % Porcentagem
- ® Marca registrada

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
1.1	<i>HIPÓTESES</i>	23
1.2	<i>OBJETIVOS</i>	23
2	REVISÃO DE LITERATURA	25
2.1	<i>CORTICOTERAPIA</i>	26
2.1.1	Corticoterapia pré-natal e seu efeito na maturação fetal	27
2.1.2	Corticoterapia pós-natal e seu efeito na maturação fetal	29
2.2	Mecanismos de ação dos glicocorticóides	31
2.3	<i>AVALIAÇÃO NEONATAL</i>	31
2.3.1	Exame clínico neonatal.....	32
2.3.2	Fisiologia neonatal.....	33
2.4	<i>INTERVENÇÕES VENTILATÓRIAS</i>	35
2.5	<i>SISTEMAS ANTIOXIDANTES</i>	36
3	MATERIAIS E MÉTODOS	40
3.1	<i>GRUPOS EXPERIMENTAIS</i>	40
3.2	<i>DELINEAMENTO EXPERIMENTAL</i>	42
3.2.1	Avaliação da vitalidade (score Apgar) e clínica neonatal	43
3.2.2	Avaliação da glicemia e lactatemia	43
3.2.3	Avaliação hemogasométrica arterial	44
3.2.4	Avaliação do perfil oxidativo e enzimas antioxidantes	44
3.2.5	Assistência e Suporte ventilatório	46
3.3	<i>ANÁLISE ESTATÍSTICA</i>	49
4	RESULTADOS	53
4.1	<i>SCORE APGAR, AVALIAÇÃO CLÍNICA E TEMPERATURA CORPÓREA</i>	53
4.2	<i>GLICEMIA E LACTATEMIA</i>	57
4.3	<i>HEMOGASOMETRIA ARTERIAL</i>	58
4.4	<i>ESTRESSE OXIDATIVO E ENZIMAS ANTIOXIDANTES</i>	64
4.5	<i>ASSISTÊNCIA VENTILATÓRIA</i>	65
4.6	<i>MORTALIDADE NEONATAL</i>	66
4.7	<i>ANÁLISE DE CORRELAÇÃO</i>	67
5	DISCUSSÃO	70
5.1	<i>AVALIAÇÃO CLÍNICA, METABÓLICA E GASOMÉTRICA</i>	70

5.2	<i>EQUILIBRIO ÁCIDO-BÁSICO NEONATAL</i>	76
5.3	<i>HEMATÓCRITO E HEMOGLOBINA</i>	77
5.4	<i>ASSITÊNCIA VENTILATÓRIA</i>	78
5.5	<i>ESTRESSE OXIDATIVO NEONATAL</i>	80
6	CONCLUSÃO	83
	REFERÊNCIAS	85

Introdução

1 INTRODUÇÃO

Diferentes fatores podem influenciar no desempenho da ovinocultura no Brasil e no mundo. Dentre estes, o percentual de mortalidade de cordeiros desponta como principal fator prejudicial à produção de ovinos, com taxas bastante elevadas. No Brasil, estima-se mortalidade neonatal de 15% a 40%, variando entre distintas regiões do país, como por exemplo, 25,4% e 15,18% para a região sudeste e nordeste, respectivamente (COSTA et al., 1990; GIRÃO et al., 1998). Dentre as causas de morbimortalidade perinatal, cita-se as infecções bacterianas, verminoses, desnutrição materna pré e pós-parto e desnutrição do cordeiro. Somado a estas, algumas complicações durante o período gestacional, como fraturas, traumas por brigas e alterações metabólicas resultam, em sua maioria, em partos prematuros espontâneos ou induzidos, incrementando as altas taxas de mortalidade reportadas.

O período de transição feto-neonatal exige o início de funções vitais não cumpridas durante a vida intra-uterina, como a respiração pulmonar em substituição à atividade placentária. Para tanto, a adequada função respiratória é condição indispensável ao êxito neonatal, além da necessidade de desenvolvimento dos demais sistemas para o sucesso adaptativo. Como mecanismo crucial para tal fim, o aumento do cortisol fetal ao final do período gestacional atua na maturação de tecidos e sistemas essenciais à sobrevivência do neonato, tais como pulmão, fígado, sistema nervoso central e trato gastrointestinal (LOEHLE et al., 2010; ANDREWNS, WAKER., 1999; BAUD et al., 1999). Esta relação é descrita para diferentes espécies, como ovinos, roedores, primatas e no homem (BOLT et al., 2001).

A utilização do corticosteróide durante a gestação, objetivando induzir artificialmente a maturação pulmonar fetal, iniciou-se em 1972, após pesquisa pioneira de Graham Liggins e seu colaborador, o pediatra Ross Howie. Com tal conduta, evidenciaram que cordeiros nascidos prematuros, tratados com corticoterapia no período pré-natal, apresentaram melhor vitalidade quando comparado aos prematuros não tratados. Posteriormente, respostas salutares também foram observadas em humanos, tal como a significativa redução na incidência de alterações pulmonares e na taxa de morbi-mortalidade de neonatos pré-termos em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) (PELTONIEMI et al., 2007; BONNANO; WAPNER, 2009).

Os problemas de origem pulmonar presentes em UTIs neonatais humanas estão, em sua maioria, vinculados à prematuridade e suas complicações. A Síndrome do Desconforto Respiratório (SDR) do recém-nascido destaca-se por sua importância clínica e epidemiológica (MIYOSHI; GUINSBURG; KOPELMAN, 1998). É resultante da deficiência e/ou inativação do surfactante alveolar, desenvolvimento estrutural incompleto do parênquima pulmonar e instabilidade músculo-esquelética da caixa torácica (MIYOSHI; GUINSBURG; KOPELMAN, 1998). Outra alteração pulmonar de grande relevância em Unidades Médicas de Terapia Intensiva é denominada Doença Pulmonar Crônica (DPC) ou Displasia Broncopulmonar (DBP), a qual se desenvolve a partir da injúria e inflamação pulmonar (OGDEN et al., 1984). Neonatos prematuros críticos são os mais predispostos a desenvolvê-la, haja vista a maior necessidade de intervenções ventilatórias, com conseqüente aumento de danos pulmonares pela utilização de alto volume corrente (HILLMAN et al., 2009). Portanto, o perfil clínico desta afecção caracteriza-se por comprometimento funcional pulmonar persistente e necessidade de oxigênio adicional após 28 dias de idade (O'BRODOVICH; MELLINS, 1985). Enquanto a corticoterapia antenatal induz a maturação estrutural e funcional pulmonar, os corticosteróides utilizados no período pós-natal são indicados como terapia combatente aos processos inflamatórios, objetivando reduzir o número de neonatos ventilados com Doença Pulmonar Crônica (DURAND; SARDESAI; MCEVOY, 1995).

Atualmente, a corticoterapia materna é utilizada rotineiramente em Medicina e considerada um dos raros exemplos de terapia que permite diminuir custos e aumentar a sobrevivência neonatal (MURPHT, 2007). Resultados positivos também são descritos em neonatos humanos com a utilização da dexametasona pós-natal, com melhora na complacência pulmonar e diminuição na necessidade de suplementação de oxigênio, bem como diminuição no tempo de dependência ventilatória (EHRENKRANZ; MERCURIO, 1992; HALLIDAY, 1999; HALLIDAY; EHRENKRANZ, 2001). Entretanto, sua eficácia está condicionada a múltiplas aplicações, para as quais também estão relacionados efeitos adversos graves (YEH et al., 1998; SHINWELL et al., 1999). Portanto, infere-se que a ação do corticosteróide seja dose, potência, idade gestacional, tempo de parição e espécie dependente.

A Neonatologia Veterinária figura como crescente especialização, para a qual ainda há reduzido número de pesquisas direcionadas ao aprimoramento de

protocolos assistenciais e de monitorização neonatal, usualmente praticadas de forma empírica. Este panorama científico torna a assistência a pacientes prematuros ainda mais crítica. Como consequência, os índices de morbi-mortalidade reportados ainda mantêm-se elevados para as distintas espécies animais.

1.1 HIPÓTESES

Com base na referida problemática científica, são hipóteses deste trabalho:

1. A corticoterapia materna pré-natal ou pós-natal melhora as condições clínicas e a função pulmonar de cordeiros prematuros extremos nascidos aos 135 dias de gestação, garantindo sua sobrevivência.
2. A corticoterapia materna pré-natal ou pós-natal reduz a necessidade de assistência ventilatória ou tempo de ventilação de cordeiros prematuros extremos nascidos aos 135 dias de gestação.

1.2 OBJETIVOS

1. Avaliar a ação do tratamento com betametasona pós-natal ou materna pré-natal na condição clínica (vitalidade), função pulmonar, atividade metabólica e hemodinâmica em cordeiros prematuros extremos (135 dias).
2. Avaliar a necessidade de assistência ventilatória de cordeiros prematuros extremos (135 dias), submetidos ou não ao tratamento com betametasona pós-natal ou materna pré-natal.
 3. Avaliar a atuação dos diferentes protocolos de tratamento com betametasona sobre a garantia de sobrevivência neonatal.

Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

Em Medicina, a prematuridade é a principal causa de morbi-mortalidade neonatal, sendo responsável por 75% dos óbitos (RADES et al., 2004). Entre as múltiplas complicações da prematuridade, a Síndrome do Desconforto Respiratório (SDR), relacionada à imaturidade estrutural e inadequada produção de surfactante, constitui uma grave afecção (HERMANSEN; LORAH, 2007). O surfactante, formado por componentes lipídicos e protéicos, está presente entre as camadas de ar e água no interior dos alvéolos, onde desempenha a função de reduzir a tensão na superfície alveolar, prevenindo seu colapso ao final da expiração (CHAIWORAPONGSA et al., 2008). Logo, a produção insuficiente deste componente pulmonar resulta em aumento da tensão superficial e força de retração elástica, levando à instabilidade e formação de áreas de atelectasia. À medida que tal processo evolui, observa-se diminuição da complacência pulmonar, capacidade residual funcional (GRIESE, 1999) e da relação ventilação/perfusão, acarretando em hipoxemia, hipercapnia e acidose (PARANKA, 1999).

O quadro clínico da SDR caracteriza-se por insuficiência respiratória ao nascimento, combinada à fase de taquipnéia, retração intercostal ou subcostal, ruídos expiratórios e cianose (BITTAR, 2002). Em potros, os principais sinais clínicos relacionados à SDR são aumento da frequência e esforço respiratórios, hipoxemia, hipercapnia e acidose respiratória (LAMB; O'CALLAGHAN; PARADIS, 1990). Em bezerros, os principais achados são dispnéia expiratória com evidente retração dos dois últimos pares de costela e agravamento progressivo nas 60 horas seguintes ao nascimento, culminando em óbito (EIGENMANN et al., 1984).

Outra alteração pulmonar de importância em UTIs neonatais humanas, com sérias sequelas em longo prazo, é a Doença Pulmonar Crônica (DPC) ou Displasia Broncopulmonar, a qual caracteriza-se por doença pulmonar persistente em neonatos prematuros, bem como necessidade prolongada de oxigênio adicional, em conjunto com manifestações clínicas de origem respiratória e achados radiográficos compatíveis. O sinal preditor de DPC é a baixa complacência pulmonar dinâmica, pelo aumento na resistência pulmonar (GOLDMAN, 1983). Os principais fatores predisponentes são barotraumas, volutraumas e inflamações resultantes de práticas ventilatórias inadequadas, com alto valor de pico de pressão, além de danos

pulmonares causados pela disponibilização de elevada fração inspirada de oxigênio (HALLIDAY; EHRENKRANZ, 2001). Esta alteração pode estar associada à Síndrome do Desconforto Respiratório e outras alterações pulmonares da prematuridade, portanto, em função do emprego de modalidades terapêuticas distintas para as alterações respiratórias agudas (AVERY, 1975). Vincula-se menor risco de DPC à redução do barotrauma por utilização de pressão positiva controlada, e aceitação de níveis de PaCO₂ acima da faixa fisiológica (AVERY, 1975).

Por se tratar de afecção resultante de processos inflamatórios e lesivos pulmonares, o tratamento da DPC é a utilização da dexametasona nas primeiras horas ou semanas do pós-parto. Tal protocolo pode ser adotado de forma preventiva em Unidades de Terapia Intensiva. A corticoterapia pós-natal, somada a adequadas técnicas ventilatórias e tratamento com surfactante exógeno, reduzem a incidência e complicações da Doença Pulmonar Crônica em UTIs neonatais.

2.1 CORTICOTERAPIA

As primeiras evidências do potencial indutor de maturação fetal dos corticosteróides foram obtidas por Liggins em 1969. Por meio da infusão fetal de dexametasona, com o intuito de estudar os mecanismos envolvidos no trabalho de parto em ovinos, o pesquisador observou indicadores de maturação pulmonar nos cordeiros nascidos prematuros. Em estudo posterior, controlado e duplo-cego, envolvendo 282 gestantes, Liggins e Howie (1972) descreveram a redução na incidência da SDR e da mortalidade de neonatos prematuros, quando tratados com intervalo de pelo menos 24h do nascimento.

Os resultados dos estudos pioneiros dos efeitos da corticoterapia na maturação e melhora na função pulmonar, com conseqüente redução nas taxas de morbi-mortalidade de neonatos prematuros, motivaram um grande número de pesquisadores a explorarem os mecanismos de ação dos corticosteróides em diferentes espécies, por distintas vias, intervalos e momentos de administração.

2.1.1 Corticoterapia pré-natal e seu efeito na maturação fetal

Nos dias que antecedem ao parto, o aumento fisiológico nas concentrações plasmáticas de corticosteróides endógenos é responsável pela maturação final de diferentes tecidos fetais. Portanto, em partos prematuros, observa-se insatisfatório desenvolvimento fetal (BONANNO; WAPNER, 2009). Desde as comprovações de Liguins e Howie (1972), a betametasona é utilizada em Perinatologia como fármaco de eleição para promover melhora da função pulmonar neonatal, em formulação química composta por partes iguais de fosfato dissódico de betametasona, solúvel e rapidamente absorvido, e acetato de betametasona, o qual atua como depósito a partir do qual a betametasona é lentamente absorvida (MOSS et al., 2003). Após a administração, a circulação materna atua como reservatório, a partir da qual a passagem trans-placentária de betametasona é gradual, com pico de concentração fetal após 1 a 4 horas da administração (JOBE et al., 2007). Em Medicina, recomenda-se a utilização de ciclo único, referente a duas aplicações de 12 mg de betametasona com intervalo de 24 horas (JOBE et al., 2007). Estudos remetem à melhora nas características pulmonares quando a intervenção medicamentosa é cumprida com intervalo mínimo de 24 horas antes do nascimento (LIGGINS; HOWIE, 1972; WILLET et al., 2001), com melhor atuação na administração realizada 48 horas prévias à data do nascimento (REGAZZI, 2011). Jobe et al. (2007) descreveram melhor efeito de maturação pulmonar quando o protocolo é realizado com duas aplicações de betametasona, em intervalo de 24 horas, em comparação à dose única.

A corticoterapia antenatal está relacionada à redução da mortalidade neonatal, menor incidência e severidade da Síndrome do Desconforto Respiratório e redução nos riscos de Hemorragia Intraventricular severa (WRITE et al., 1995; SHANRAKAN et al., 1995). Em extenso estudo de metanálise, Roberts e Dalzier (2006) demonstraram redução da mortalidade neonatal, síndrome da angústia respiratória do recém-nascido, hemorragia intraventricular, enterocolite necrotizante, necessidade de assistência ventilatória e admissões em UTIs neonatais quando os recém-nascidos prematuros eram expostos aos corticosteróides antes do nascimento.

Embora a espécie ovina seja o modelo experimental mais utilizado para o estudo de maturação fetal por meio da corticoterapia pré-natal, seus efeitos em longo prazo são pouco conhecidos, pois tais estudos adotam a eutanásia pós-natal como conduta experimental. Neste contexto, Rebello e Ikegami (1997) descrevem redução significativa na permeabilidade endotelial pulmonar em cordeiros prematuros, mesmo quando o intervalo entre o tratamento materno e o nascimento tenha sido inferior a 8 horas. Também é possível observar aumento da relação entre as concentrações de colágeno e elastina no parênquima pulmonar, sugerindo maior complacência a partir de 14 horas após a exposição aos corticosteróides (BECK et al., 1981). Estudos realizados em ratos sugerem que os glicocorticóides ativam a bomba de Na^+/K^+ e canais de sódio dos alvéolos, favorecendo o processo de clearance de fluidos pulmonares (O'BRODOVICH et al., 1993).

Além das referidas ações pulmonares, ciclos únicos de betametasona pré-natal atuam no sistema nervoso central (SNC) com efeito protetor, promovendo maior estabilidade da pressão sanguínea cerebral, com redução da incidência de afecções como hemorragia periventricular e leucomalácia periventricular (BAUD et al., 1999). Por outro lado, repetidas aplicações estão relacionadas a restrições de desenvolvimento do SNC, por indução de efeito apoptótico (RIVA et al., 1995), menor número de células nervosas e giros do encéfalo (Uno et al., 1990) e deficitária mielinização em axônios (HUANG et al., 1999). Kutzler et al. (2004) observaram diminuição do peso cerebral de neonatos ovinos nascidos prematuros após a administração antenatal de dexametasona durante 4 dias com intervalo de 12h, mesmo em doses baixas.

Como resposta cardiovascular à corticoterapia pré-natal administrada diretamente ao feto, Padbury et al. (1995) observaram aumento da pressão arterial média e do débito cardíaco, evidenciando melhor adaptação cardiovascular neonatal. Resultados semelhantes foram observados na administração materna pré-natal, pois a corticoterapia promoveu aumento da frequência cardíaca fetal, resistência vascular periférica e, conseqüentemente, aumento na pressão arterial fetal, por elevar a ação das catecolaminas (SCHWAB; COKSAYGAN; NATHANIELSZ, 2006).

A corticoterapia materna ao final do período gestacional tem demonstrado aumentar a reserva de glicogênio hepático em fetos de roedores, bem como a atividade da enzima glicose 6-fosfatase (catalisadora de uma das etapas da reação

de quebra do glicogênio em glicose), auxiliando no processo de gliconeogênese e glicogenólise, respectivamente (KLEPAC, 1985; FLETCHER et al., 2000). Entretanto, o motivo pelo qual a administração exógena de glicocorticoides maternos aumenta a atividade de enzimas hepáticas fetais e deposição de glicogênio permanece desconhecido. Estudos relacionam tais eventos à ação indireta de hormônios tireoideanos (FORHEAD et al., 2003; MATTHEWS et al., 2006), pois atuam como mediadores de maturação dos glicocorticóides (FOWDEN et al., 1998).

Conforme referido, muitos efeitos benéficos da betametasona na melhora da função pulmonar são descritos, seja em dose única ou ciclo único. Porém, o tratamento repetido está associado ao retardo de crescimento fetal, com perda de peso ao nascimento (IKEGAMY et al., 1997; WILLET et al., 2001), prejuízos ao SNC (WHITELAW; THORESEN, 2000) e à septação pulmonar (WILLET et al., 2001).

2.1.2 Corticoterapia pós-natal e seu efeito na maturação fetal

Os processos inflamatórios exercem significativa atuação na patogênese de doenças respiratórias neonatais, as quais estão vinculadas inicialmente, em sua maioria, à imaturidade e incapacidade funcional pulmonar. Destarte, a utilização pós-natal de corticosteróides atua na prevenção ou tratamento de complicações respiratórias em neonatos prematuros de baixo peso, tais como a Displasia Broncopulmonar (DBP).

O emprego da corticoterapia pós-parto iniciou-se, em Medicina, na década de 70, quando médicos pediatras observaram rápida melhora nos mecanismos pulmonares após a terapia com corticóide. Desta forma, adotaram a administração intravenosa de dexametasona como rotina terapêutica no tratamento da DBP, com resultante redução no tempo necessário de oxigenioterapia. Entretanto, relatos subseqüentes apontaram sérios efeitos vinculados ao seu uso, tais como perfuração intestinal, déficit de crescimento e neuro-desenvolvimento, além de paralisia cerebral (SHINWELL et al., 2000; STARK et al., 2001). Por tais motivos, em 2002, a Sociedade Pediátrica Canadense e a Academia Americana de Pediatria publicaram um guia de restrições à utilização pós-natal de corticosteróides, culminando em marcada redução no seu uso (SHINWELL et al., 2003).

Em recente estudo, atesta-se que a terapia pós-natal com dexametasona ainda é frequentemente utilizada em UTI neonatal humana para neonatos prematuros com DBP (ZHUANG et al., 2014), com resultados clínicos variáveis segundo a idade neonatal, dose e tempo de tratamento (HALLIDAY et al., 2001; STARK et al., 2001). A administração de dexametasona nas primeiras 96 horas de vida objetiva prevenir a DBP, enquanto a terapia após 1 a 3 semanas intenciona o tratamento de distintos graus da doença (FRIEDMAN; SHINWELL, 2004). Halliday, Ehrenkranz e Doyle (2003) descrevem diminuição na necessidade de suplementação de oxigênio e redução na incidência de Doença Pulmonar Crônica (DPC) quando o protocolo de administração de dexametasona é realizado de forma intravenosa na dose de 0,5 mg/Kg nos primeiros 3 dias, seguido de um curso terapêutico em doses decrescentes de 0,25; 0,125 e 0,05 mg/kg, por mais 3 dias em cada dose. Diversos efeitos benéficos são descritos para protocolos de corticoterapia iniciados nas primeiras horas do nascimento. Entretanto, efeitos adversos graves também foram relacionados, tais como hemorragia gastrointestinal, perfuração intestinal, hiperglicemia, hipertensão, miocardiopatia hipertrófica, insuficiência de crescimento e alterações neurológicas (HALLIDAY; EHRENKRANZ; DOYLE, 2003).

Quando o tratamento com dexametasona é iniciado entre 1 e 2 semanas do nascimento, observa-se redução na mortalidade e incidência de DBP, bem como menor tempo de ventilação. Os efeitos adversos são mais brandos e incluem hipertensão, hiperglicemia, hemorragia gastrointestinal e infecção (HALLIDAY; EHRENKRANZ; DOYLE, 2003). Por outro lado, quando o tratamento é iniciado após 3 semanas, não se observa efeito sobre a taxa de mortalidade neonatal, entretanto, há reduzida necessidade de suplementação de oxigênio. Os efeitos adversos em curto prazo foram glicosúria e hipertensão, porém não há relatos de efeitos neurológicos tardios (HALLIDAY; EHRENKRANZ; DOYLE, 2003).

Em medicina, os estudos acerca do tratamento corticoterápico no período pós-natal estão expostos em pesquisas randomizadas, assim como em estudos de metanálise e revisões sistemáticas. Por outro lado, em Medicina Veterinária, pesquisas que envolvem tal abordagem são escassas, porém fundamentais para o incremento das taxas de sobrevivência neonatal.

2.2 MECANISMOS DE AÇÃO DOS GLICOCORTICÓIDES

Ao percurso gestacional, receptores de glicocorticóides são formados no citosol de diferentes células, responsáveis pela modulação da expressão de genes responsivos (FALAH; HAAS, 2014). Trata-se do tipo de resposta celular múltipla, a qual envolve processos de maturação estrutural e bioquímica tecidual, alterações metabólicas e fisiológicas, modulação de respostas imunes e alterações comportamentais (VIDAEFF; DOYLE; GILSTRAP III, 2003).

Com o objetivo de modular a passagem do cortisol materno para o feto, a enzima placentária 11- β hidroxisteróide desidrogenase tipo 2 atua na conversão de esteróides maternos à forma inativa (BROWN et al., 1996). Entretanto, esta barreira não impede a passagem dos esteróides sintéticos, haja vista a reduzida metabolização enzimática da dexametasona e betametasona (SECKL, 2001). Ademais, estudos indicam que a dexametasona e betametasona apresentam afinidade ao receptor de glicocorticóide, pelo menos, 5 vezes maior que o cortisol (FALAH; HAAS, 2014), aumentando a eficiência de tratamento com a corticoterapia.

O grau de desenvolvimento fetal, assim como a expressão de receptores de glicocorticóides, são variáveis entre as espécies. Por exemplo, o crescimento e maturação do córtex cerebral mantem-se após o nascimento em humanos e roedores, ao passo que em ovelhas e primatas, o desenvolvimento cerebral máximo ocorre no período fetal. Além disto, as espécies diferem na afinidade para o receptor de esteróides; com maior afinidade detectada em ratos do que seres humanos (HAGBERG et al., 1997). Deste modo, tais particularidades devem ser reconhecidas ao utilizar animais como modelo experimental para a espécie humana.

2.3 AVALIAÇÃO NEONATAL

Os cuidados intensivos em Neonatologia Veterinária, bem como a definição do melhor protocolo terapêutico a ser adotado, continuam figurando como expressivos desafios na área. Entretanto, recentes estudos buscam, por meio da definição de parâmetros fisiológicos, determinar técnicas de assistência clínica e

laboratorial e fornecer subsídios para o estabelecimento de procedimentos médicos de eleição a neonatos das distintas espécies animais.

2.3.1 Exame clínico neonatal

Em Medicina, a avaliação da vitalidade neonatal ao nascimento é, rotineiramente, desempenhada por meio do escore Apgar, o qual avalia as principais funções vitais do neonato já nos primeiros minutos de vida. Tal ferramenta permite acompanhar, por meio da evolução clínica, o desempenho adaptativo imediato à vida extra-uterina, diferenciar neonatos hígidos de severamente comprometidos, avaliar a eficácia de manobras de ressuscitação e auxiliar na identificação de adequada conduta preventiva e corretiva (YEOMAN et al., 1985; FINSTER; WOOD, 2005). Porém, não é ferramenta sensível o suficiente para detectar o comprometimento neonatal menos aparente, como graus leve e moderado de hipoxemia (SILVA, 2008). A avaliação Apgar é geralmente desempenhada entre 1 e 5 minutos após o nascimento e, posteriormente, repetida para neonatos que apresentam ou mantêm baixo escore.

Por tratar-se de uma prática eficaz na identificação da condição clínica neonatal, o escore Apgar foi adaptado à Medicina Veterinária de acordo com a fisiologia neonatal de cada espécie, sendo utilizado para potros, bezerros, leitões (VERONESI et al., 2009), cães (SILVA et al., 2008; VERONESI et al., 2009) e pequenos ruminantes (VANNUCCHI et al., 2012). Em Medicina Veterinária, adaptações sugerem a avaliação do batimento cardíaco, atividade respiratória, tônus muscular, coloração de mucosa e vocalização ao nascimento (MOON et al., 2001, VANNUCCHI et al., 2012). Em humanos, o escore inferior a 3 é usualmente considerado crítico e o normal, quando superior a 7 (VERONESI et al., 2009). Para a espécie ovina, espera-se valor mínimo de 6 ao nascimento, ascendendo para escore Apgar acima de 8 após 5 minutos (VANNUCCHI et al., 2012).

2.3.2 Fisiologia neonatal

O período neonatal representa uma fase adaptativa, com o cumprimento de funções fetais não desempenhadas durante a vida intrauterina, bem como a maturação final de diferentes órgãos e tecidos.

A sobrevivência neonatal no período pós-parto imediato está intimamente ligada à manutenção térmica neonatal. Entretanto, o equilíbrio entre os mecanismos de termólise e termogênese é deficitário no neonato ovino. Ao nascimento, a termogênese é controlada, essencialmente, pela metabolização do tecido adiposo marrom, havendo variação na temperatura retal durante as primeiras horas após o nascimento (CLARKE et al., 1997). Neste período, temperaturas inferiores a 38°C são consideradas hipotermia, com temperatura ideal variando de 38 a 39°C na primeira semana de vida (BALL et al., 2010).

Durante o período entre o nascimento e início da alimentação, o neonato depende essencialmente de nutrientes endógenos (FOWDEN et al., 2001), o que requer adequada reserva de energia e via glicogênica eficiente. Ao final do período gestacional, há aumento na deposição hepática de glicogênio e na ação de enzimas glicogênicas do fígado fetal, como forma de preparação do feto para a transição nutricional ao nascimento (SHELLEY, 1961; DAWKINS, 1966; BARNES et al., 1978; FOWDEN et al., 1993). Em recém-nascidos termos, tal preparação é dependente da elevação fisiológica nos valores de cortisol fetal, o qual inicia-se, aproximadamente, aos 135 dias de gestação (BARNES et al. 1978). Vannucchi et al. (2012) atestaram a ocorrência de hipoglicemia em cordeiros termos, imediatamente após o nascimento. Em cordeiros prematuros (145 dias de gestação), observou-se hipoglicemia até 2 horas de vida, com valores normais somente após 4h (SILVA, 2012).

Um rápido período de asfixia ocorre em partos normais, acompanhada de hipercapnia e acidemia transitórias (MASSIP, 1980). Após o nascimento, a hipóxia persiste em resposta à inadequada maturação do centro respiratório e processo adaptativo pulmonar (BLEUL et al., 2007). Em neonatologia humana, dados hemogasométricos, tais como pH, pO₂ e pCO₂, são utilizados como indicadores do grau de acidose e complicações do período pós-parto (ANDRES et al., 1999). Estudos recentes descrevem valores hemogasométricos fisiológicos durante o

processo adaptativo neonatal em ovinos (VANNUCCHI et al., 2012; SILVA, 2012). Entretanto, exames laboratoriais não são utilizados rotineiramente na avaliação clínica neonatal para esta espécie.

O uso da concentração de lactato sanguíneo como indicador de hipóxia perinatal, auxiliando no diagnóstico precoce e prognóstico de recém-nascidos de alto risco, é uma prática hospitalar comum em medicina (STEVENSON et al., 2007; CASTAGNETTI et al., 2010). Em UTIs neonatais humanas, a avaliação do nível de lactato sanguíneo é utilizada para estabelecer a probabilidade de risco de óbito, haja vista ser um marcador de hipoperfusão tecidual (MORAGUELI et al., 2004; MISOCK et al., 1989). A maioria dos casos de hiperlactatemia em pacientes graves é decorrente de inadequada oxigenação tecidual (MORAGUELI et al., 2004; MISOCK et al., 1989), com resultante degradação anaeróbia da glicose (MELLOR; STAFFORD, 2004). Na via metabólica da glicólise, há a produção do piruvato a partir da degradação de carboidratos. Em situação de hipoxemia, o piruvato é utilizado como substrato à produção de energia por meio da via metabólica anaeróbica, na qual formam moléculas de lactato (KRUSE; CARLSON, 1987). Portanto, ao lactato é conferida a característica de ser marcador da perfusão tecidual (VIVAN, 2010). Falhas na oxigenação tecidual podem ser originadas por transtornos respiratórios, com insuficiente oxigenação do sangue ou hipoperfusão tecidual. Como as manifestações clínicas de hipoperfusão nem sempre são aparentes, a hiperlactatemia pode ser o único marcador desta alteração (MISOCK et al., 1989; MORAGUELI et al., 2004).

A hiperlactatemia em neonatos caninos é definida como a alteração metabólica que resulta em valores de lactato superiores a $6,26 \pm 2,7$ mmol/L no primeiro dia de vida e $2,3 \pm 0,99$ mmol/L no quarto dia (BUENO et al., 2012). Descreve-se correlação significativa entre o peso do neonato e a concentração de lactato, pois filhotes de menor peso apresentam maior concentração de lactato (BUENO et al., 2012). Em neonatos ovinos termos, a concentração sérica de lactato, logo após o nascimento, corresponde a valores entre 6,65 e 8,87 mmol/L, enquanto após 1 e 2 horas os valores correspondem a 4,43 mmol/L e 3,32 mmol/L, respectivamente (COMLINE; SILVER, 1972)

2.4 INTERVENÇÕES VENTILATÓRIAS

A utilização de protocolos de assistência ventilatória, em salas de parto ou unidades de terapia intensiva neonatal, apresenta como principal objetivo o estabelecimento de efetiva ventilação pulmonar, capaz de reverter quadros de apnéia, respiração irregular e/ou bradicardia. Em cordeiros, cães e humanos recém-nascidos, as pesquisas científicas admitem que a administração de pressões positivas durante a ventilação resulta em melhora da função pulmonar, por diminuir a resistência das vias aéreas superiores, desobstruindo-as; elevar a capacidade residual funcional; diminuir a resistência à inspiração; ampliar a perfusão pulmonar e troca gasosa; manter o surfactante na superfície alveolar, dentre outras vantagens (FARIDAY, 1976; SAUNDERS et al., 1976; COTTON et al., 1980). Todavia, a ventilação com pressão positiva deve ser cuidadosamente controlada, a fim de evitar injúrias pulmonares, tais como barotraumas por elevada pressão de inspiração, volutraumas (excessivo volume corrente e hiperextensão pulmonar), atelectraumas (sucessivas reexpansões e colapsos alveolares) e, ainda, biotraumas (inflamação ou infecção do parênquima pulmonar) (SCHMÖLZER et al., 2008). Tais alterações provocam o extravasamento de fluido proteináceo e sanguíneo para o interior das vias aéreas, alvéolos e interstício e, em consequência, inibem a adequada atuação do surfactante, interferindo no desempenho dos pulmões (ATTAR; DONN, 2002). Ademais, o biotrauma subsequente à ventilação mecânica não permanece limitado aos pulmões, de modo que a elevação generalizada de citocinas pode acarretar a instituição da síndrome da resposta inflamatória sistêmica e a apoptose celular em diversos órgãos (HALBERTSMA et al., 2005).

Diferentes estratégias ventilatórias são propostas e utilizadas de acordo com a clínica neonatal. Em quadros iniciais de hipoxemia, resultantes de insuficiência respiratória, a qual manifesta-se por retrações costais, aumento do esforço respiratório e batimentos das aletas nasais, a oxigenioterapia é o modo ventilatório de eleição. Em Medicina Humana, o uso do balão auto-inflável acoplado à máscara representa o modo ventilatório ideal no período pós-parto imediato para neonatos com complicações respiratórias (ALMEIDA; GUINSBURG, 2011). Entretanto, este modo não permite determinar com acurácia o volume corrente de gás administrado (O'DONNEL et al., 2005), bem como a pressão inspiratória (PIP).

Objetivando diminuir as perdas de gás nos espaços entre a máscara e a face do neonato, o balão auto-inflável pode ser acoplado diretamente à sonda endotraqueal de animais intubados. Todavia, este método ainda não permite instituir PIP precisa e constante, haja vista a moderada imprecisão da válvula de segurança. Opta-se, portanto, pela ventilação mecânica com intubação traqueal em pacientes deprimidos, com distrição respiratória severa, apnéia, ventilações prolongadas, massagens cardíacas e/ou utilização de adrenérgicos (ALMEIDA; GUINSBURG, 2011).

Em Medicina Humana, preconiza-se que o sucesso para a proteção dos pulmões durante a ventilação mecânica está em otimizar o volume pulmonar e limitar a hiperexpansão do parênquima, por meio da aplicação de Pressão Expiratória Final Positiva (PEEP) adequada, tempo inspiratório mais curto, menor volume corrente (4 a 6 mL/kg) e hipercapnia permissiva (BROWN; DIBLASI, 2011). A *Ventilação Mandatória Intermitente Sincronizada* (SIMV) a pressão ou tempo é o modelo assistencial bastante utilizado em Pediatria Humana, considerado um aperfeiçoamento da Ventilação Mandatória Intermitente (IMV), pois minimiza possíveis assincronias entre o paciente e o aparelho de ventilação. Na SIMV, o ventilador libera um número de respirações previamente estabelecidas, sem alteração na frequência respiratória. No entanto, respirações intercaladas podem ser detectadas em resposta ao esforço respiratório espontâneo do paciente. Esta modalidade apresenta como vantagens, a redução da necessidade de sedação, diminuição da alcalose respiratória induzida, prevenção da atrofia da musculatura respiratória, além de melhorar a troca gasosa e a função cardíaca, diminuir a pressão média da via aérea, evitando, assim, barotraumas, e facilitando a independência do paciente ao ventilador (MATSUMOTO; ALMEIDA, 2005).

2.5 SISTEMAS ANTIOXIDANTES.

O elemento oxigênio representa, em média, 21% da composição do ar, sendo um composto essencial para a respiração celular e produção de energia em animais e plantas. Entretanto, assim como é indispensável para a vida, pode resultar em

danos irreversíveis quando disponível em concentrações superiores a 60%. Portanto, no processo evolutivo, os seres vivos desenvolveram mecanismos antioxidantes que objetivam combater os possíveis efeitos deletérios da exposição excessiva ao O₂ (CROOS et al., 1987).

Um pequeno percentual de todo oxigênio consumido pelas células é metabolizado na forma de espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como o ânion superóxido (O₂⁻), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e radical hidroxila (OH⁻), os quais devem ser combatidos e equilibrados pelos diferentes sistemas antioxidantes. As falhas neste equilíbrio desencadeiam aumento da ação dos radicais livres e sérios danos teciduais e celulares. O potencial efeito lesivo destes radicais deve-se à presença de elétrons desparelhados, os quais tornam as EROs altamente reativas a diversas biomoléculas presentes em lipídeos, carboidratos e proteínas (FREEMAN; CRAPO, 1982; CROOS et al., 1987).

As lesões resultantes do potencial tóxico dos radicais livres podem ser diretas, tais como: ruptura de membrana lipo-protéica; destruição de funções enzimáticas; alteração estrutural de proteínas, ácidos nucleicos, lipídeos e carboidratos; alteração da permeabilidade vascular; degradação oxidativa em moléculas de longa duração, como colágeno e em glicosaminoglicanos e fibrose artério-capilar. Ainda, há lesões indiretas, por distúrbios de homeostase do cálcio intracelular, com conseqüente ativação da xantina-oxidase (metabólito da cascata da hipoxantina), fosfolipase A2 (metabólito da cascata do ácido araquidônico) e morte celular (FREEMAN; CRAPO, 1982; RODRIGUES, 1998).

Para evitar possíveis danos causados pelas EROs, o organismo dispõe de um arsenal de neutralização, os antioxidantes, os quais podem ser classificados como enzimáticos e não enzimáticos. O sistema enzimático é formado por várias enzimas, destacando-se a superóxido dismutase (SOD), a qual não penetra na célula e possui meia vida curta; catalase (CAT), de menor poder de ação em órgãos como coração, cérebro e pulmão; e a glutathiona peroxidase (GPx), dependente do selênio, localizada no citosol e matriz mitocondrial. A defesa antioxidante não enzimática compõe-se pelas vitaminas A, E, C, ácido úrico, bilirrubina, dentre outros componentes (NICHII et al., 2007).

No sistema de defesa enzimático, a SOD catalisa a reação na qual duas moléculas de O₂ formam uma molécula de H₂O₂ e outra de O₂. Posteriormente, o H₂O₂ é destruído pela catalase ou pela GPx, transformando-o em duas moléculas de

H₂O e uma de O₂ (NICHI et al., 2007). A SOD é descrita como enzima de maior potencial antagonista à injúria oxidativa pulmonar (CLAYTON et al., 2001; BOWLER et al., 2002).

Tanto a exposição ao ambiente extrauterino, como a instituição de suporte ventilatório ao nascimento expõem o neonato a um ambiente rico em O₂, favorecendo danos mediados pela formação das EROs (BUONOCORE; GROENENDAAL, 2007). Em prematuros, tais agressões são favorecidas pelo perfil plasmático neonatal, o qual apresenta baixas concentrações de agentes antioxidantes como GPx, SOD, catalase, dentre outros (GOPINATHAN et al., 1994). Frente a este perfil, terapias que requerem suporte de O₂, embora necessárias em diferentes instâncias, apresentam caráter potencialmente tóxico a muitos tecidos e órgãos neonatais (RODRIGUES, 1998).

Materials e Métodos

3 MATERIAIS E MÉTODOS

As condições experimentais obedeceram às normas éticas de utilização de animais em experimentos, adotadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (protocolo número 2981/2013).

3.1 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Ao longo do presente trabalho, utilizamos 17 ovelhas, das quais 22 neonatos, nascidos aos 135 dias de gestação, foram aleatoriamente alocados em três grupos experimentais:

GRUPO CORTICOTERAPIA MATERNA PRÉ-NATAL (CORT PRÉ; n=8): neonatos oriundos de fêmeas submetidas ao tratamento materno pré-natal aos 133 dias de gestação, com uso de betametasona (Betalong[®], União Química), em dose única de 0,5 mg/Kg de peso materno, por via de aplicação intra muscular (IM).

GRUPO CORTICOTERAPIA PÓS-NATAL (CORT PÓS; n=9): neonatos submetidos ao tratamento pós-natal com betametasona (Betalong[®], União Química), 10 minutos após o nascimento, em dose única de 0,5 mg/Kg de peso neonatal, por via de aplicação intra muscular (IM).

GRUPO CONTROLE (CONT; n=5): cordeiros nascidos aos 135 dias de gestação, não submetidos a tratamento.

Previamente à instituição das análises experimentais, protocolos de reprodução assistida, controle ultrassonográfico da gestação, seguidos de cuidados obstétricos e neonatais foram realizados, a fim de garantir hígidez materna e neonatal.

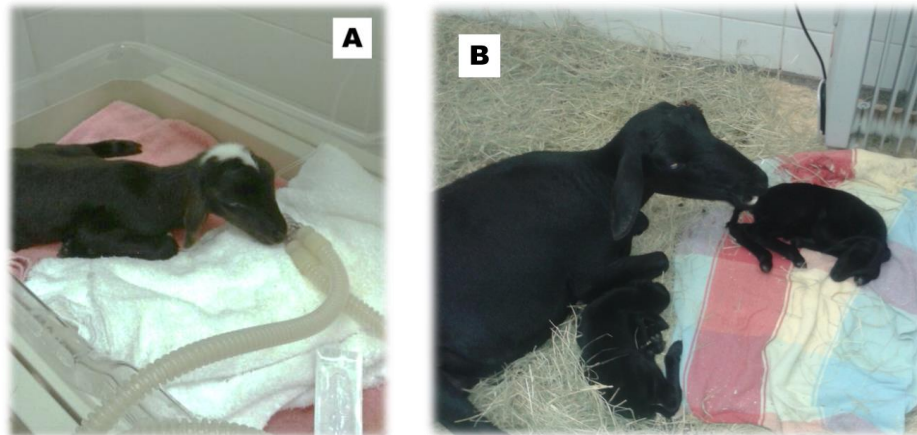
As ovelhas foram submetidas à sincronização hormonal do estro, por meio da aplicação de 2,5 mL, por via intra muscular (IM), de PGF2 α (Lutalize[®], Pfizer). Após 1 dia da administração da PGF2 α , iniciou-se a atividade de rufiação, servindo-se de 2 reprodutores mestiços Santa Inês. As montas naturais foram realizadas com

intervalos de 12 horas, do início ao término da aceitação ao macho. O período gestacional foi considerado aquele a partir de 24 horas do início da receptividade da fêmea (JAINUDEEN; HAFEZ, 2001). Perfez-se acompanhamento ultrassonográfico durante a gestação para atestar hígidez materna e fetal, bem como presença de gestações múltiplas.

Para todos os grupos experimentais, protocolos de indução de parto foram adotados, objetivando o trabalho de parto prematuro aos 135 dias. Foram utilizadas 2 aplicações sub-cutâneas (SC) do antiprogéstágeno aglepristona (Alizin[®], Virbac), na dose de 10 mg/kg de peso materno, com intervalo de 24 horas entre as aplicações, sendo a primeira aplicação às 49 horas prévias à data estimada para o parto (SILVA, 2012). Para o grupo experimental que recebeu o tratamento corticoterápico pré-natal, foi necessário adotar protocolo distinto, em função do antagonismo bioquímico, descrito *in vitro*, entre a aglepristona e glicocorticóides (Virbac, informação técnica), podendo haver inativação da maturação pulmonar induzida pela corticoterapia materna. Para tanto, no Grupo CORT PRÉ, a indução do parto foi realizada por aplicação intra-muscular (IM) de Betametasona (Betalong[®], União Química), na dose de 0,5 mg/kg de peso, às 48 horas prévias à data estimada do parto, seguida de aplicação única do antiprogéstágeno aglepristona (Alizin[®], Virbac), na dose de 20 mg/kg de peso, às 24 horas prévias à data estimada do parto.

Imediatamente após o nascimento, e remoção dos anexos fetais, os neonatos foram secos com auxílio de panos e vigorosamente estimulados por meio de massagem torácica. Posteriormente, realizou-se cuidadosa aspiração da cavidade oral e vias aéreas anteriores com o uso de sonda uretral n^o06 (Mark Med[®]), acoplada ao aspirador de secreções (Nevoni[®]). Para prover calor artificial, os recém-nascidos foram mantidos em berço aquecido (FANEM[®]) (Figura 1A) ou junto à mãe (Figura 1B) em ambiente aquecido. Aos 10 minutos de vida, os cordeiros foram pesados.

Figura 1 - Neonato mantido em berço aquecedor (FANEM[®]) (Figura 1A) ou em baia maternidade com aquecedor ambiental (Figura 1B)

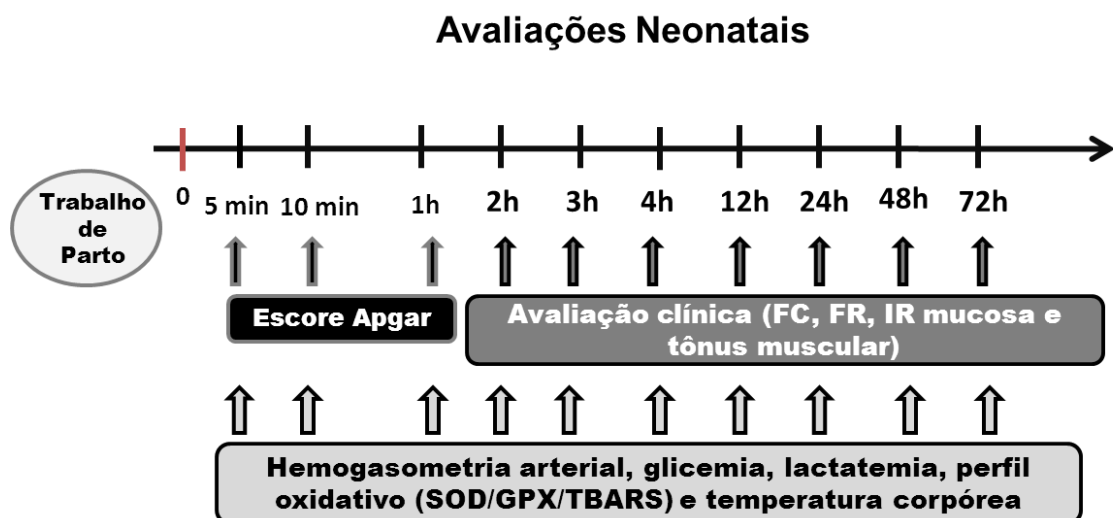


Fonte: Regazzi, F. M. (2015)

3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

As análises experimentais, assim como os tempos de avaliação, estão descritos de forma cronológica na figura 2.

Figura 2 - Condutas experimentais e momento das avaliações realizadas nos distintos grupos experimentais



Fonte: Regazzi, F. M. (2015)

3.2.1 Avaliação da vitalidade (escore Apgar) e clínica neonatal

No presente estudo, optamos por nos basear no escore adaptado à espécie ovina por Vannucchi et al. (2012) (Quadro 1). Para tal propósito, foram analisadas as variáveis de frequência cardíaca (FC), frequência, esforço respiratório e vocalização (FR), tônus muscular (TM), irritabilidade reflexa (IR) e coloração de mucosas aparentes (CM), as quais foram graduados de 0 a 2 e, somadas, fornecendo escore de 0 a 10. A temperatura corpórea foi aferida em 10 momentos pontuais, distribuídos nos 3 dias subsequentes ao parto (Figura 2), por via retal .

Quadro 1 - Parâmetros adotados para o escore Apgar de vitalidade neonatal para ovinos

VARIÁVEIS	ESCORE		
	0	1	2
Frequência Cardíaca	Ausente	Presente e bradicárdica FC < 120 bpm	Presente e normal FC = 120 - 220 bpm
Esforço Respiratório / Frequência respiratória	Ausente	Irregular FR < 35 mpm	Regular e vocalização FR = 35 - 90 mpm
Tônus muscular	Flacidez	Alguma flexão	Flexão
Irritabilidade Reflexa	Ausente	Algum movimento	Hiperatividade
Coloração de mucosas	Cianose/palidez	Cianose	Rósea

Fonte: Vannucchi et al. (2012).

3.2.2 Avaliação da glicemia e lactatemia

Em nosso estudo, as análises de glicemia e lactatemia foram realizadas a partir de amostras de sangue colhidas da veia jugular, por meio de agulhas e seringas estéreis. Após colheita, 25 µl das amostras foram imediatamente depositadas no equipamento Accutrend Plus® (Giromed Cirúrgica). Os resultados glicêmicos e lactatêmicos foram expresso em mg/dL e mmol/L de sangue, respectivamente.

3.2.3 Avaliação hemogasométrica arterial

Para a determinação de valores hemogasométricos, amostras de sangue arterial foram colhidas por punção da artéria femoral, com uso de seringas e agulhas estéreis heparinizadas. A análise sanguínea foi realizada pelo analisador clínico portátil i-SAT[®] (Abbott), fornecendo resultados de pH, pO₂ (pressão parcial de oxigênio; mmHg), SO₂ (saturação de oxigênio; %), pCO₂ (pressão de dióxido de carbono; mmHg), HCO₃⁻ (bicarbonato; mmol/L) e BE (base excess; mmol/L).

3.2.4 Avaliação do perfil oxidativo e enzimas antioxidantes

Para análise do perfil de peroxidação lipídica e enzimas antioxidantes, amostras de sangue foram colhidas por punção da veia jugular em momentos pré-estabelecidos (Figura 2). As amostras foram transferidas para tubos com gel separador com ativador de coágulo e centrifugadas a 1500 xg por 10 minutos. O soro assim obtido foi armazenado em microtubos de polipropileno (Eppendorf[®]) de 2 mL em freezer a -20°C até o processamento.

O perfil oxidativo dos neonatos foi avaliado por meio da concentração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no soro sanguíneo, segundo protocolo descrito por Nichi et al. (2007). O teste baseia-se na reação de duas moléculas de ácido tiobarbitúrico (TBA) com uma molécula de malondialdeído (MDA), produzindo um complexo de coloração rósea, quantificado por espectrofotometria, em comprimento de onda de 532 nm. Para esta reação, foi adicionado 500 µL de ácido tricloroacético 10% (TCA 10%) a 4°C em alíquotas de 250 µL de soro sanguíneo, para promover a precipitação das proteínas. Após centrifugação (20.000 xg, 5 °C, 15 minutos), foram colhidos 500 µL do sobrenadante. Então, este foi diluído em 500 µL de ácido tiobarbitúrico a 1% (TBA, 1% diluído em 0,05 M de hidróxido de sódio), mantido em banho de água quente a 100°C, por 15 minutos e, então, imediatamente resfriado em banho de gelo (0°C), para interrupção da reação química. As TBARS foram quantificadas por espectrofotometria, com comprimento de onda de 532 nm (Ultrospec 3300 pro[®], Amersham Biosciences). Os

resultados foram comparados com uma curva padrão, feita previamente com solução de MDA e expressos em ng/mL.

Do mesmo modo, a quantificação da enzima glutathione peroxidase (GPx) do soro sanguíneo seguiu a técnica descrita por Nichi et al. (2007), para a qual 50 µL de soro foram adicionados a 10 µL de solução de azida sódica 0,25 M, 10 µL de solução de GSSG redutase, 50 µL de solução de glutathione reduzida (GSH) 20 mM, 330 µL de tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,8, 500 µL de solução de NADPH 0,2 mM e 50 µL de solução de t-butilhidroxiperoxido (tBPH). Então, a solução foi avaliada por espectrofotometria, com comprimento de onda de 340 nm, durante 600 segundos. O resultado, em U/mL, foi calculado baseando-se na absorbância/min da amostra avaliada em espectrofotômetro (Ultrospec 3300 pro®, Amersham Biosciences) e no coeficiente de extinção molar do NADPH (6,22 mM⁻¹cm⁻¹), conforme equação a seguir:

$$\text{Concentração da GPx} = \frac{\Delta \text{ absorbância da amostra}}{6,22} \times 20 \times \text{diluções}$$

A determinação da atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD) foi realizada segundo a técnica proposta por Flohé e Ötting (1984). A atividade da SOD é medida indiretamente, através da taxa de redução do citocromo C pelo O₂⁻ e a atividade enzimática é medida determinando-se a taxa de diminuição da redução do citocromo C. O meio de reação continha 1 µL de citocromo C (Sigma®, C3381), 50 µL de xantina (Sigma®, X 2252), 100 µL de EDTA e 50 µL de tampão fosfato de sódio (Sigma®, S 9638) a pH 7,8. Realizou-se, então, a adequação da atividade enzima xantina oxidase necessária para geração de O₂⁻ e redução do citocromo C em 0,025 unidades de absorbância por minuto, pois 1 unidade de atividade da SOD total corresponde a 50% deste valor. O cálculo da concentração de SOD na amostra seguiu a fórmula a seguir:

$$\text{SOD} = \frac{(\Delta \text{ absorbância da amostra} - \text{absorbância do branco})}{(\text{absorbância do branco} / 2)} \times \text{diluções}$$

O ensaio foi realizado a 550 nm e 25 °C e o resultado expresso em U/mL

3.2.5 Assistência e Suporte ventilatório

No presente estudo, todos os neonatos destinados ao suporte ventilatório com balão auto-inflável ou ventilação mecânica foram, inicialmente, intubados, e então, de acordo com os achados clínicos, submetidos às diferentes estratégias ventilatórias (Quadro 2). Para a intubação traqueal, foram utilizadas cânulas de intubação nº 3,5 ou 4,0 com cuff (Solidor®), guiadas por laringoscópio tradicional (Oxigel®) conectado à lamina reta ou curva nº 1 (Oxigel®). Na ventilação com balão auto-inflável, as sondas traqueais foram acopladas ao balão auto-inflável neonatal humano de 250 mL (Ambu - Oxigel®), com válvula de segurança limitada a 40 ± 05 cm de H₂O. A fim de determinar a pressão inspiratória, um manômetro de pressão foi acoplado ao balão (Oxigel®) (Figura 3B). Os neonatos foram ventilados na frequência respiratória de 60 a 70 rpm e pressão de 30 a 40 cm de H₂O.

Quadro 2 - Estratégias ventilatórias e parâmetros clínicos neonatais adotados

Oxigenioterapia com máscara	Valor de escore Apgar menor do que 5 e/ou auscultação pulmonar ruidosa, associada à distrição respiratória em qualquer momento no decorrer do período experimental
Balão auto-inflável (AMBU) acoplado à sonda traqueal	Valor de escore Apgar menor do que 5 associada à distrição respiratória, bradpneia ou apneia, com ou sem bradicardia, em qualquer momento no decorrer do período experimental
Ventilação Mecânica	Apneia ou severa bradipneia associada ou não a parada cardíaca ou bradicardia, em qualquer momento no decorrer do período experimental

A oxigenioterapia foi ofertada via máscara, utilizando-se respirador MONNAL T75[®] (Air Liquide), acoplado a fonte de oxigênio central (Figura 3A). A FiO₂ inicial foi ajustada para 50%. Na medida em que as variáveis hemogasométricas assumiam valores de referência, passou-se para 40%. A máscara foi acoplada à traquéia do ventilador e mantida, sob pressão, na região nasal do neonato. Esta técnica tem como desvantagem a fuga de gases e imprecisão no fornecimento da FiO₂. Os neonatos permaneceram na ventilação com máscara até a avaliação clínica indicar adequada freqüência respiratória e ausculta pulmonar.

Figura 3 - Oxigenioterapia com máscara realizada com respirador MONNAL T75[®] (Air Liquide) (Figura 3A) e balão auto-inflável (Ambu - Oxigel[®]) acoplado a um manômetro de pressão (Figura 3B)

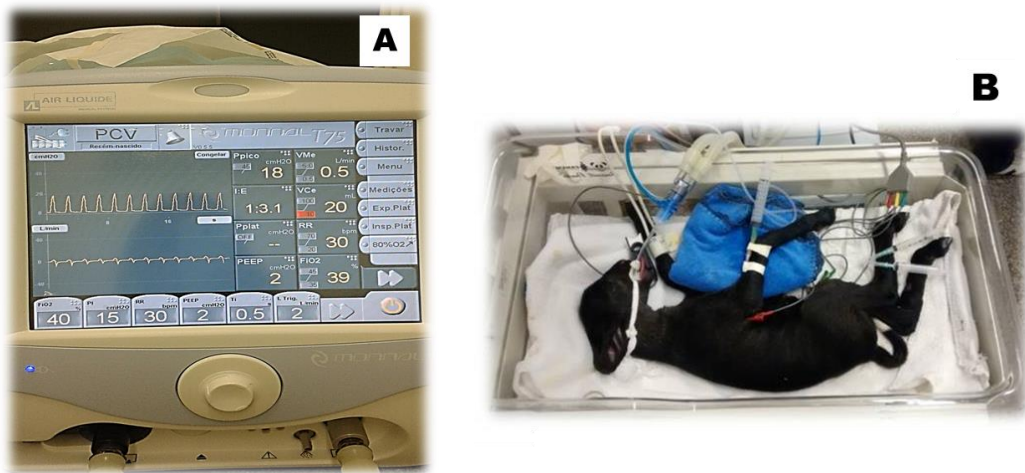


Fonte: Regazzi, F. M. (2015)

Para a ventilação mecânica, utilizamos o respirador MONNAL T75[®] (Air Liquide) (Figura 4), adequando a modalidade ventilatória (P-SIMV ou PCV) à clínica neonatal. Após conectar a traquéia do respirador à sonda endotraqueal do neonato, adotamos como parâmetros iniciais de ventilação, Fio₂ de 40%, tempo inspiratório (Ti) de 0,4 segundos, frequência respiratória (FR) entre 40 e 60 mpm, pressão de suporte de 7 cmH₂O, trigger de fluxo igual a 2 L/ min, trigger expiratório de 25% e rampa no valor de 150 L/ min. Metas ventilatórias e hemodinâmicas foram estabelecidas e, de modo a cumpri-las, critérios de ajustes foram criados, a saber: quando observado volume corrente inferior a 6 mL/ Kg (volume mínimo desejado), a pressão de suporte foi ajustada em 2 cmH₂O até valores ideais; para volumes superiores a 8 mL/kg (volume máximo desejado), diminuiu-se o valor de pressão em 1 cmH₂O; para manutenção de adequada saturação de oxigênio (SO₂=85%), realizou-se, inicialmente, pressão positiva ao final da fase expiratória (PEEP) escalonada, com aumento de 2 cmH₂O a cada 30 segundos, com início de 6 cmH₂O e término de 12, seguida por fase de decréscimo de PEEP para 10/8/ 7 e 6 cmH₂O a cada 30 segundos). Caso o valor ideal de SO₂ não tenha sido atingido, aumentou-se a FiO₂ em 10%, até atingir a meta. Para a manutenção de adequada PaCO₂ (entre 40 e 50 mmHg), foi estabelecido o aumento gradual da frequência respiratória em 10 mpm não ultrapassando 60 mpm e, se necessário, aumento da PEEP em 1 cmH₂O por 30 min e da rampa para 180 L/min. Para ajuste dos valores do pH, determinou-se a causa base (metabólica ou ventilatória) e, então, procedeu-se o ajuste ventilatório, fluidoterápico ou medicamentoso (administração de bicarbonato).

Quanto às metas hemodinâmicas, para o ajuste da Pressão Arterial Média (PAM) em 30 – 40 mmHg, utilizamos a administração de fluido em bolus (10 mL/kg/15min), norepinefrina (0,05 mcg/kg/min) e adrenalina (1 a 2 mcg/kg/min). A ventilação mecânica estendeu-se até o período necessário para garantir a sobrevivência neonatal.

Figura 4 - Respirador MONNAL T75® (Air Liquide) na modalidade PCV (Figura 4A) e cordeiro neonato prematuro sob monitorização e suporte ventilatório (Figura 4B)



Fonte: Regazzi, F. M. (2015)

Como variáveis objetivas da análise do suporte ventilatório, avaliamos o tempo (em minutos) necessário para o início do protocolo ventilatório a partir do nascimento do cordeiro. Após iniciada a ventilação, os neonatos foram avaliados quanto ao tempo de permanência na ventilação.

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados por meio do programa SAS System for Windows (SAS, 2000). O efeito dos grupos experimentais, momentos de avaliação, bem como a interação entre tais fatores, foi estimado pelo PROC GLM. De acordo com a normalidade dos resíduos (distribuição Gaussiana) e homogeneidade das variâncias, as diferenças entre tratamentos foram analisadas por meio de testes paramétricos (PROC GLM para cada fator isoladamente ou LSD para fatores combinados) e não-paramétricos (Wilcoxon). Sempre que necessário, os dados foram transformados com o objetivo de obedecer as premissas estatísticas.

Para os casos de interações significativas, o efeito do tratamento (grupos experimentais) foi analisado agrupando-se todos os momentos de avaliação. Igualmente, a avaliação nos diferentes momentos foi comparada combinando-se

todos os grupos; caso contrário, as comparações estatísticas foram realizadas levando-se em consideração ambos os efeitos (tratamento e tempo).

As diferenças entre tratamentos foram analisadas utilizando o PROC NPAR1WAY para análise de variância não paramétrica. O tratamento foi verificado pelo teste de Kruskal-Wallis e pelo teste Wilcoxon para múltiplas comparações. As variáveis classificatórias foram: grupos e tempos de avaliação. As variáveis respostas foram: dados do escore Apgar, avaliação clínica, temperatura corpórea, glicemia, lactatemia, hemogasometria arterial, assistência ventilatória, concentração das TBARS e enzimas antioxidantes GPx e SOD. As variáveis também foram submetidas à análise de correlação de Spearman.

Os resultados estão expressos como média \pm erro padrão. O nível de significância adotado é de 5%, ou seja, as diferenças estatísticas entre as variáveis classificatórias para as variáveis respostas foram consideradas quando $p < 0,05$.

Valores de referência adotados neste estudo

Para a avaliação dos resultados neonatais do presente experimento, foram adotados como referência os seguintes parâmetros de cordeiros termos:

- Escore Apgar: $8 \pm 0,2$ (Vannucchi et al., 2012)
- Frequência respiratória: 66 ± 27 mpm (nascimento); 77 ± 23 mpm (5 min) (Vannucchi et al., 2012)
- Frequência respiratória (FR) no primeiro dia de vida: 86 ± 37 mpm, (Lima et al., 2010).
- FC no primeiro dia de vida: 203 ± 43 bpm
- Temperatura corpórea de $38,1^\circ\text{C}$ ao nascimento (Vannucchi et al., 2012)
- $p\text{O}_2$: $46,0 \pm 11,8$ a $45,2$ (60 min) (Vannucchi et al., 2012)
- $p\text{O}_2$ e $p\text{CO}_2$ após 1 hora: $46 \pm 11,8$ e $45,2 \pm 4,7$ mmHg (Vannucchi et al., 2012).
- SpO_2 : $59,83 \pm 10,85$ % (Feitosa et al., 2011)
- HCO_3^- : $23,88 \pm 2,17$ mmol/L (Vannucchi et al., 2012).
- pH: $7,33 \pm 0,04$ (Vannucchi et al., 2012).
- BE: (-) 4 a 4 (Rodrigues et al., 2007)

- Glicemia: 30 ± 10 mg/dl (nascimento); $46,86 \pm 21,87$ mg/dL (60 min) (Vannucchi et al., 2012).
- Lactato: < 4 mmol/L (Comline e Silver, 1972)

Resultados

4 RESULTADOS

4.1 ESCORE APGAR, AVALIAÇÃO CLÍNICA E TEMPERATURA CORPÓREA

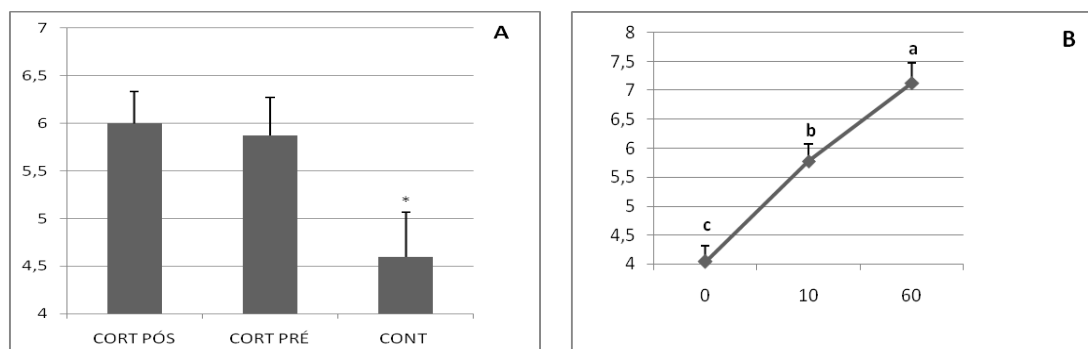
Para as variáveis respostas escore Apgar, coloração de mucosa, tônus muscular, irritabilidade reflexa, frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura corpórea, não houve interação significativa entre momentos de avaliação e os grupos estudados. Portanto, os resultados estão demonstrados discriminando os efeitos principais Grupos e Momentos de avaliação (Tabela 1).

Tabela 1 - Valores de probabilidade (p) para os efeitos principais momentos de avaliação (0 vs. 5 a 10 vs. 60min vs. 2h vs. 3h vs. 4h vs. 12h vs. 24h vs. 48h vs. 72h) e grupos experimentais (CORT PRÉ vs. CORT PÓS vs. CONT) e sua interação para a avaliação neonatal - São Paulo - 2015

Variável	Momentos (p)	Grupos (p)	Tempo X Grupo (p)
Apgar	<0001	0,0081	0,8429
Coloração de Mucosas	<0001	0,0611	0,5964
Tônus Muscular	<0001	<0001	0,2326
Irritabilidade Reflexa	<0001	0,737	0,6813
Temperatura	<0001	0,0102	0,1586

Não identificamos diferença estatística entre os valores de escore Apgar nos grupos CORT PÓS e CORT PRÉ ($6 \pm 0,3$ e $5,8 \pm 0,4$, respectivamente; Figura 1A), com menor escore observado no grupo controle ($4,6 \pm 0,4$; Figura 5A). Utilizando como critério os valores de referência de neonatos termos (VANNUCCHI et al., 2012), baixos valores de escore Apgar foram observados em todos os momentos de avaliação, com progressivo aumento ao longo do tempo, resultando em valor estatisticamente superior aos 60 minutos de vida ($7,1 \pm 0,3$; Figura 5B).

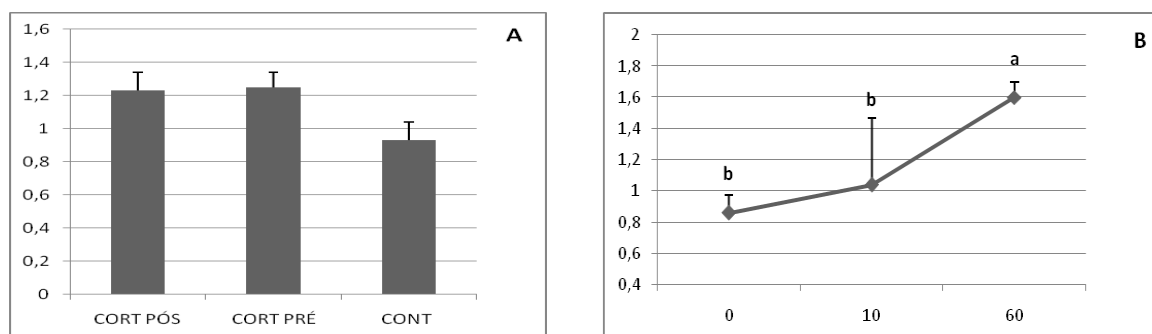
Figura 5 - Representação gráfica do escore Apgar (0 a 10) nos distintos grupos experimentais (A) e nos tempos 0, 10 e 60 minutos (B). São Paulo - 2015



* diferença significativa entre grupos experimentais; ^{a,b,c} diferença significativa entre os momentos de avaliação;

Não houve um padrão de variação quanto ao escore de coloração de mucosas entre os neonatos dos grupos tratados ($1,25 \pm 0,11$ e $1,23 \pm 0,09$ respectivamente para o tratamento pré e pós natal; Figura 6A) e controle ($0,93 \pm 0,11$). Porém, observamos melhora significativa do escore de coloração de mucosas aos 60 minutos de vida ($1,60 \pm 0,10$; Figura 6B).

Figura 6 - Representação gráfica do escore de coloração de mucosas (0 a 2) nos distintos grupos experimentais (A) e nos tempos 0, 10 e 60 minutos (B). São Paulo - 2015

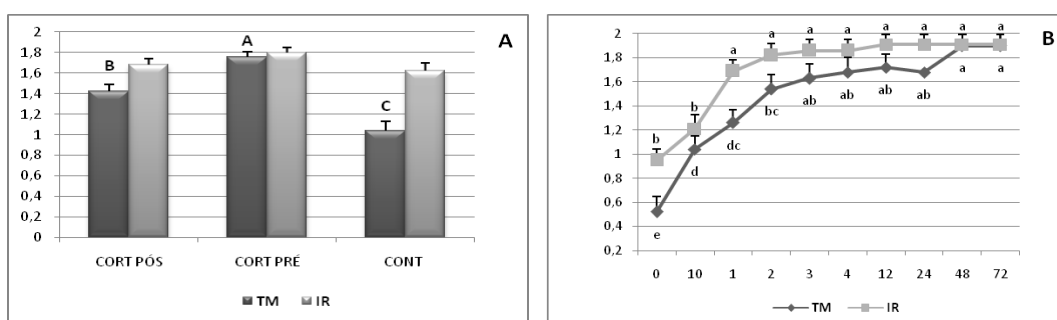


^{a,b,c} diferença significativa entre momentos de avaliação.

Ao avaliar a variável tônus muscular, observamos melhores valores nos neonatos do grupo CORT PRÉ, seguido pelo grupo CORT PÓS ($1,76 \pm 0,05$ e $1,42 \pm 0,07$, respectivamente; Figura 7A). Os menores resultados foram observados no grupo controle ($1,04 \pm 0,09$; Figura 7A). Já para a variável irritabilidade reflexa, não foi possível identificar diferença entre os grupos ($1,80 \pm 0,05$; $1,68 \pm 0,06$ e $1,62 \pm 0,08$, respectivamente, para os grupos CORT PRÉ,

CORT PÓS e CONT; Figura 7A). A figura 7B demonstra a evolução do tônus muscular e irritabilidade reflexa ao longo dos 3 dias de avaliação. Identificamos aumento progressivo de tais variáveis ao longo do tempo, com valores máximos a partir de 48h do nascimento para ambas as variáveis.

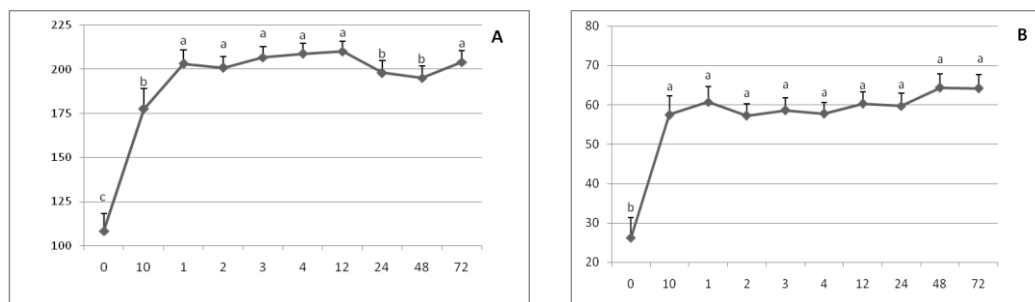
Figura 7 - Representação gráfica do escore de tônus muscular (TM) (0 a 2) e irritabilidade reflexa (IR) (0 a 2), nos distintos grupos experimentais (A) e nos tempos 0, 10 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 12h, 24h, 48h e 72 horas (B). São Paulo - 2015



A,B,C diferença significativa entre grupos experimentais, a,b,c,d,e diferença significativa entre momentos de avaliação.

Com referência aos dados fisiológicos de frequência cardíaca (Figura 8A) e respiratória (Figura 8B), os neonatos ovinos apresentaram discreta bradicardia (108 ± 10 bpm; Figura 8A) e bradipneia (26 ± 5 mpm; Figura 8B) ao nascimento. Os valores de referência foram atingidos a partir de 10 min (177 ± 12 bpm e 57 ± 5 mpm, para frequência cardíaca e respiratória, respectivamente; Figura 8A e 8B).

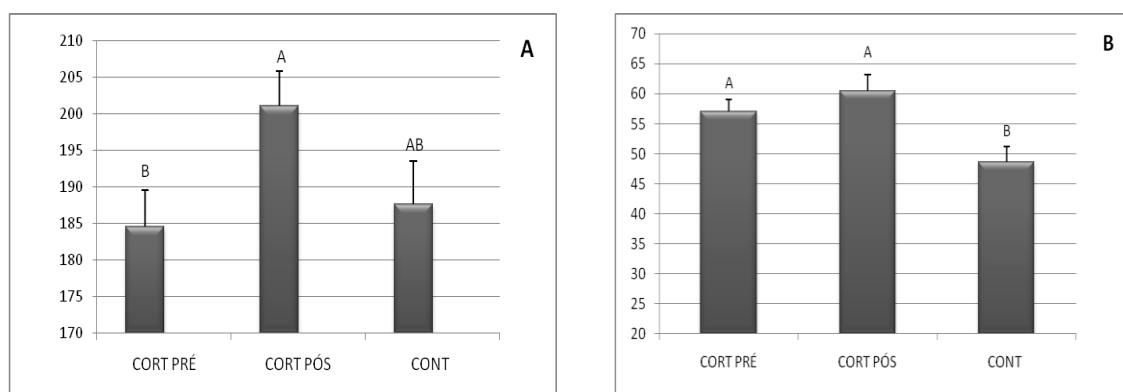
Figura 8 - Valores de frequência cardíaca (bpm - A) e frequência respiratória (mpm - B) nos tempos 0, 10 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 12h, 24h, 48h e 72 horas do nascimento. São Paulo - 2015



a,b,c diferença significativa entre momentos de avaliação

Valores estatisticamente superiores de frequência cardíaca foram observados no grupo CORT PÓS ($201,05 \pm 4,96$ bpm; Figura 9A), em relação ao grupo CORT PRÉ ($184,59 \pm 5,01$ bpm; Figura 9A), porém sem diferença com o grupo controle ($187,62 \pm 5,92$ bpm; Figura 9A). Resultados superiores de frequência respiratória foram observados nos neonatos dos grupos tratados ($57,02 \pm 1,99$ mpm e $60,42 \pm 2,73$ mpm, respectivamente, nos grupos CORT PRÉ e CORT PÓS; Figura 9B) em relação ao grupo controle ($48,70 \pm 2,57$ mpm; Figura 9B).

Figura 9 - Valores de frequência cardíaca (bpm - A) e frequência respiratória (mpm - B) nos distintos grupos experimentais. São Paulo - 2015

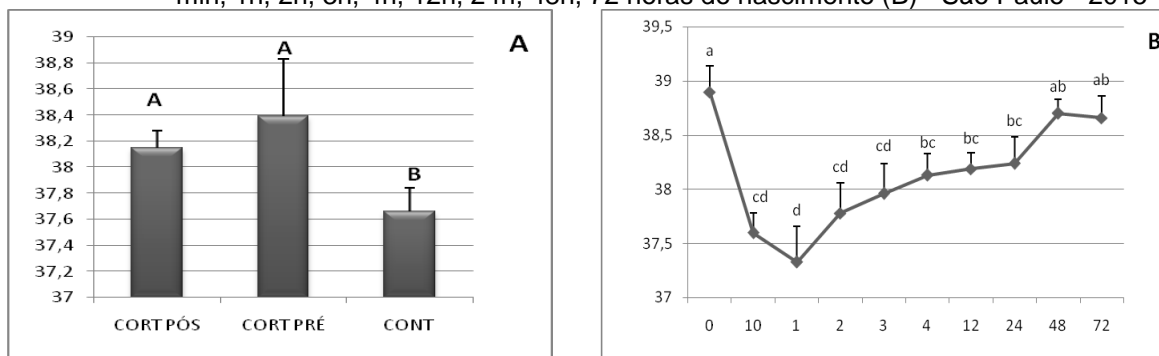


A,B,C diferença significativa entre grupos experimentais

Para a temperatura corpórea, é possível observar que os recém-nascidos dos grupos tratados apresentaram melhores valores ($38,15 \pm 0,13$ e $38,39 \pm 0,44$, respectivamente para os grupos CORT PÓS e CORT PRÉ), quando comparado ao grupo controle, o qual apresentou hipotermia ($37,7 \pm 0,2$ °C) (Figura 10A). Ao nascimento, foi observado valor correspondente à normotermia ($38,9 \pm 0,2$ °C), com queda acentuada após 1h ($37,3 \pm 0,3$ °C). Progressivo aumento da temperatura foi

verificado a partir de 2h ($37,8 \pm 0,3^\circ\text{C}$), retornando a valores semelhantes ao nascimento a partir de 24 horas ($38,2 \pm 0,2^\circ\text{C}$) (Figura 10B).

Figura 10 - Temperatura corpórea ($^\circ\text{C}$) nos distintos grupos experimentais (A) e nos tempos 0, 10 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 12h, 24h, 48h, 72 horas do nascimento (B) - São Paulo - 2015



A,B diferença significativa entre grupos experimentais, a,b,c,d diferença significativa entre momentos de avaliação.

4.2 GLICEMIA E LACTATEMIA

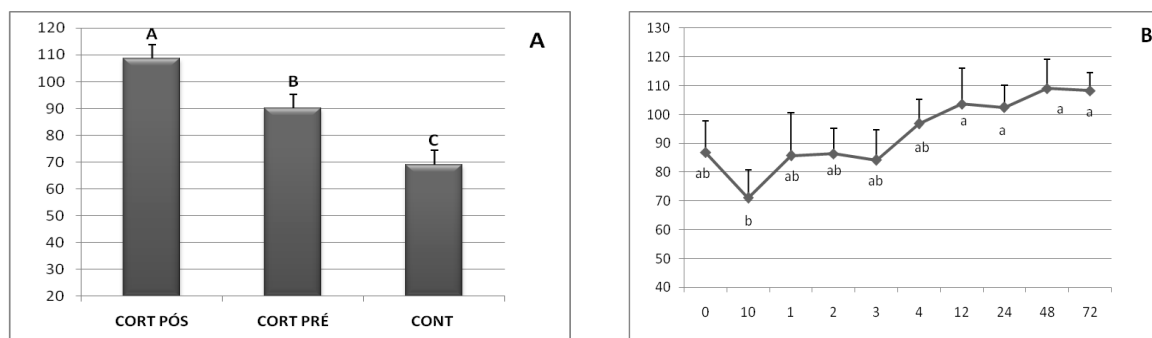
Não houve interação significativa entre os grupos e momentos de avaliação para a variável glicemia e lactatemia (Tabela 2).

Tabela 2 - Valores de probabilidade (p) para os efeitos principais momentos de avaliação (0 vs. 5 a 10 vs. 60min vs. 2h vs. 3h vs. 4h vs. 12h vs. 24h vs. 48h vs. 72h) e grupos experimentais (CORT PRÉ vs. CORT PÓS vs. CONT) e sua interação para a avaliação neonatal - São Paulo - 2015

Variável	Momentos (p)	Grupos (p)	Tempo X Grupo (p)
Glicemia	0,1616	<0001	0,9008
Lactatemia	<0001	0,0202	0,894

Para os grupos tratados, foi observada hiperglicemia, com valor estatisticamente superior no grupo CORT PÓS ($108,6 \pm 5,3 \text{ mg/dL}$), seguido pelo grupo CORT PRÉ ($90,1 \pm 0,1 \text{ mg/dL}$). Resultado estatisticamente inferior, entretanto, correspondente à normoglicemia, foi observado no grupo controle ($68,9 \pm 5,4 \text{ mg/dL}$) (Figura 11A). Ademais, com exceção da glicemia realizada aos 10 minutos ($71 \pm 9,8 \text{ mg/dL}$), notamos aumento progressivo da glicemia no decorrer dos tempos de avaliação (Figura 11B).

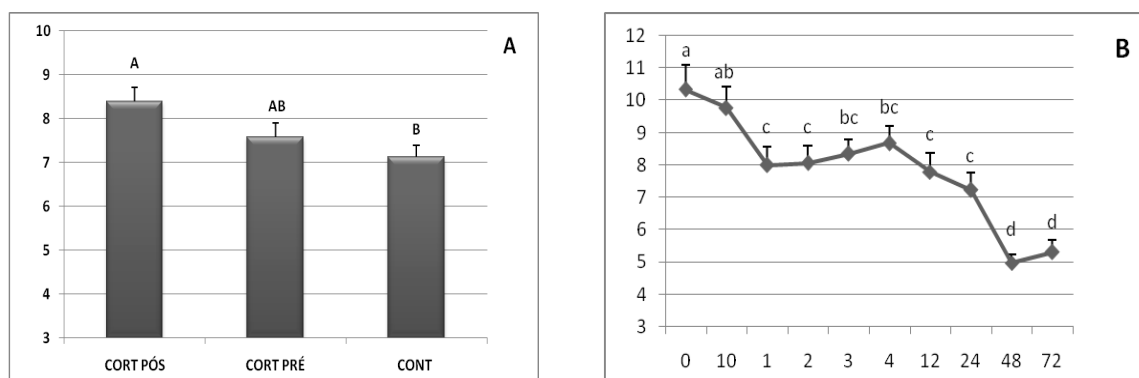
Figura 11 - Glicemia (mg/dL) nos distintos grupos experimentais (A) e nos tempos 0, 10 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 12h, 24h, 48h, 72 horas do nascimento (B) - São Paulo - 2015



A,B diferença significativa entre grupos experimentais, ^{a,b} diferença significativa entre momentos de avaliação.

O valor de lactato do grupo CORT PRÉ ($7,6 \pm 0,3$ mmol/L) não diferiu dos demais grupos. Porém, a lactatemia no grupo CORT PÓS ($8,4 \pm 0,3$ mmol/L) foi estatisticamente superior ao grupo controle ($7,1 \pm 0,3$ mmol/L) (Figura 12A). Nas avaliações temporais, altos valores de lactato foram observados em todos os momentos de avaliação, com progressiva redução até 48 e 72h (Figura 12B).

Figura 12 - Lactatemia (mmol/L) nos distintos grupos experimentais (A) e nos tempos 0, 10 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 12h, 24h, 48h, 72 horas do nascimento (B) - São Paulo - 2015



A,B,C diferença significativa entre grupos experimentais, ^{a,b,c,d} diferença significativa entre momentos de avaliação.

4.3 HEMOGASOMETRIA ARTERIAL

Para a variável resposta hemogasométrica $p\text{CO}_2$, houve interação entre os grupos experimentais e os momentos de avaliação. Entretanto, não houve interação para as demais variáveis: pH, HCO_3^- , BE, SO_2 , $p\text{O}_2$, hematócrito e hemoglobina.

Portanto, os resultados estão demonstrados evidenciando a interação, assim como discriminando os efeitos principais Grupos e Momentos de avaliação (Tabela 3).

Tabela 3 - Valores de probabilidade (p) para os efeitos principais momentos de avaliação (0 vs. 5 a 10 vs. 60min vs. 2h vs. 3h vs. 4h vs. 12h vs. 24h vs. 48h vs. 72h) e grupos experimentais (CORT PRÉ vs. CORT PÓS vs. CONT) e sua interação para a avaliação neonatal - São Paulo - 2015

<i>Variável</i>	<i>Momentos (p)</i>	<i>Grupos (p)</i>	<i>Tempo X Grupo (p)</i>
Hct	0,0009	<0001	0,9493
Hb	0,0008	<0001	0,9392
HCO₃⁻	0,0003	0,0023	0,5964
BE	<0001	0,0737	0,2636
PCO₂	<0001	<0001	0,0200
SO₂	<0001	0,4889	0,2137
pH	0,1255	0,8890	0,9856
PO₂	<0001	0,8093	0,1645

Em relação ao HCO₃⁻ sanguíneo, não houve diferença significativa entre os grupos CORT PÓS e CONT, com valores superiores no grupo CORT PRÉ. Para as variáveis pH e BE, não houve diferença significativa entre os grupos (Tabela 4).

Tabela 4 - Média e erro padrão dos valores de HCO_3^- (mmol/L), BE (mmol/L) e pH nos diferentes grupos experimentais - São Paulo – 2015

Variáveis	Grupos		
	CORT PRÉ	CORT PÓS	CONT
HCO_3^-	23,25 ± 0,59 A	20,83 ± 1,456 B	22,56 ± 0,56 B
BE	-2,39 ± 0,77	-4,56 ± 5,18	-3,13 ± 1,19
pH	7,26 ± 0,03	7,23 ± 0,88	7,27 ± 0,01

^{A,B} entre grupos indica diferença estatística ($p < 0,05$)

Em relação à comparação ao longo do tempo, valores normais de HCO_3^- foram observados em todos os momentos de avaliação. Ainda, notamos aumento significativo no valor de pH sanguíneo ($7,23 \pm 0,02$) aos 60 minutos. Para a variável BE, valor estatisticamente superior, e dentro dos limites de referência, foi observado a partir de 4h (Tabela 5).

Tabela 5 - Média e desvio padrão dos valores de HCO_3^- (mmol/L), BE (mmol/L) e pH, ao longo dos momentos de avaliação - São Paulo – 2015

Momentos	Variáveis		
	HCO_3^-	BE	pH
0	21.51±0.96ECD	-6.88±1.27B	7.148±0.030B
10	21.02±0.71ECD	-5.66±1.41B	7.149±0.037B
1	20.40±0.83ED	-6.65±1.05B	7.236±0.023A
2	20.29±0.87ED	-6.14±1.15B	7.293±0.021A
3	19.88±0,84E	-5.94±0,99B	7.313±0,01A
4	22.11±0,70BECD	-1.63±1,98A	7.340±0,32A
12	23.14±1,13BC	-1.26±1,23A	7.39±0,01A
24	24.30±1,20AB	-0.14±1,38A	7.369±0,03A
48	26±1,07	1,55±1,15A	7.396±0,08A
72	22.75±1,08BCD	-1.60±1,02A	7.380±0,01A

^{A,B,C,D} entre momentos indica diferença estatística ($p < 0,05$)

Ao avaliar os valores de pCO_2 , foi possível identificar significativa diferença conforme o tratamento (Tabela 6). O grupo CORT PRÉ apresentou valores estatisticamente inferiores aos demais a partir de 60 minutos, não havendo diferença

significativa entre os grupos CORT PÓS e CONT. No grupo CORT PRÉ houve significativo decréscimo dos valores de PCO_2 a partir do nascimento aos 10 minutos e novamente até 60 minutos, atingindo, neste momento, valores normais. Já os grupos CORT PÓS e CONT demonstraram evolução mais lenta, com valores de normalidade alcançados somente 3 horas e 12 horas após o nascimento, respectivamente (Tabela 6).

Tabela 6 - Média e erro padrão dos valores pCO_2 (mmHg) entre os grupos ao longo dos momentos de avaliação - São Paulo – 2015

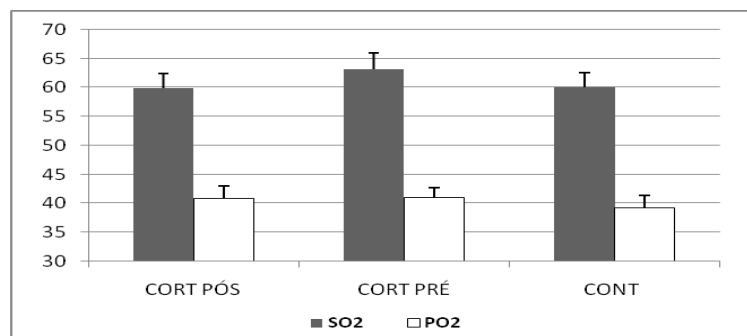
Momentos	Grupos		
	CORT PÓS	CORT PRÉ	CONT
0	56,43±5,29 a	70,58±6,49 a	62,32±6,34 a
10	57,73±3,61 a	54,5±5 b	60,4±3,69 a
1	53,36±3,15 Aab	41,9±2,74 Bc	52,94±3,15 Aab
2	47,18±2,17 Abc	34,16±1,98 Bc	45,72±3,02 Abc
3	41,83±2,42Abc	35,68±2,07 Bc	45,92±2,81 Abc
4	42,76±1,52 Abc	38,1±2,1 Bc	47,78±2,17 Abc
12	40,06±2,57 Abc	34,12±0,94 Bc	42,1±2,16 Ac
24	40,67±2,66 Abc	34,15±2,01 Bc	24,4±3,68 Ac
48	47,93±1,66 Abc	33,73±2,98 Bc	42,92±2,83 Ac
72	39,88±3,19 c	38,47±1,16 c	42,05±2,78 c

^{A,B} entre grupos indica diferença estatística ($p < 0,05$)

^{a,b} entre tempos significam diferença estatística ($p < 0,05$)

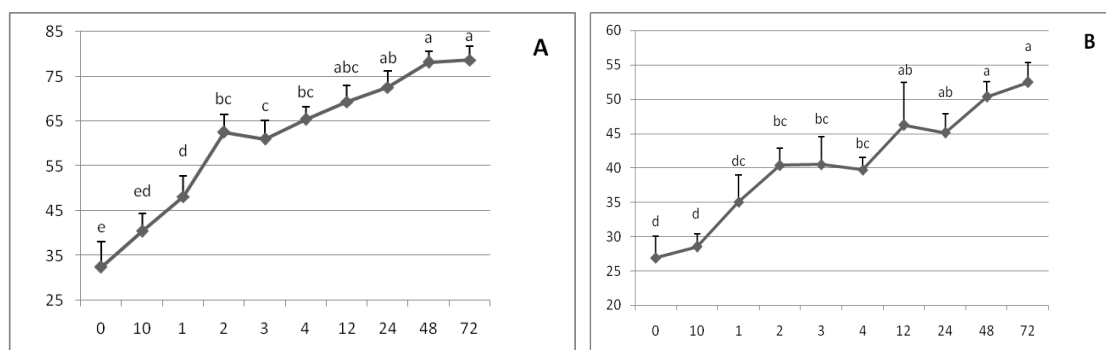
Para as variáveis de SO_2 e pO_2 , não houve diferença significativa entre os grupos (Figura 13).

Figura 13 - Saturação de oxigênio (SO_2 - %) e pressão parcial de oxigênio (pO_2 - mmHg) entre os grupos experimentais - São Paulo - 2015



Valores muito baixos, tanto de saturação de oxigênio (32.50 ± 5.59 %) quanto de pressão parcial de oxigênio (26.94 ± 3.08 mmHg), foram observados ao nascimento, atingindo valores próximos aos de referência somente aos 60 minutos do nascimento [48.18 ± 4.59 % e 35.04 ± 3.91 mmHg, respectivamente, para saturação de oxigênio (Figura 14A) e pressão parcial de oxigênio (Figura 14B)].

Figura 14 - Saturação de oxigênio (% - A) e pressão parcial de oxigênio (mmHg - B) ao longo dos momentos de avaliação - São Paulo - 2015

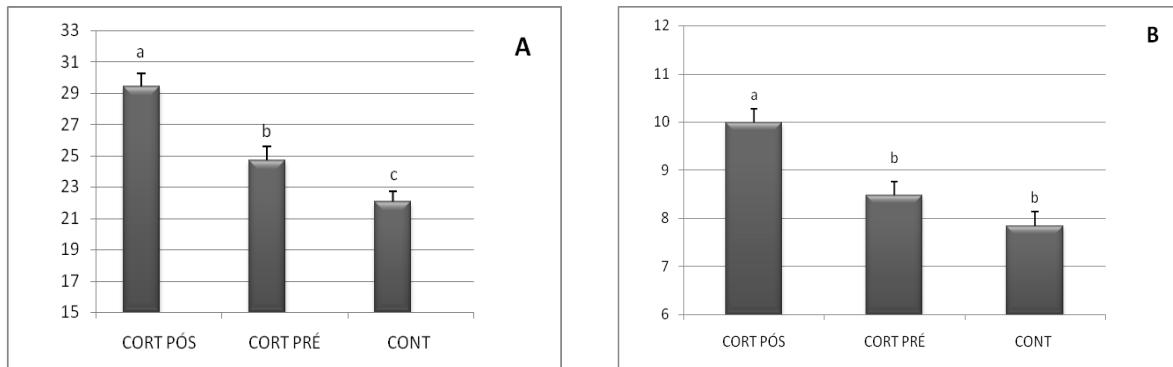


a,b,c,d,e diferença significativa entre momentos de avaliação.

Para os resultados de hematócrito e hemoglobina, observamos atuação dos diferentes protocolos de tratamento. O grupo CORT PÓS apresentou hematócrito estatisticamente superior aos demais (29.41 ± 0.85 %PCV), seguido pelo grupo CORT PRÉ ($24.70 \pm 0,88$ %PCV) (Figura 14A). Ainda, o grupo CORT PÓS demonstrou resultados superiores de hemoglobina (9.99 ± 0.28 g/dL) em relação aos demais grupos ($8.47 \pm 0,29$ g/dL e 7.83 ± 0.31 g/dL, para os grupos CORT PRÉ e

CONT, respectivamente) (Figura 15B). Entretanto, não houve diferenças entre os grupos CORT PRÉ e CONT (Figura 15A).

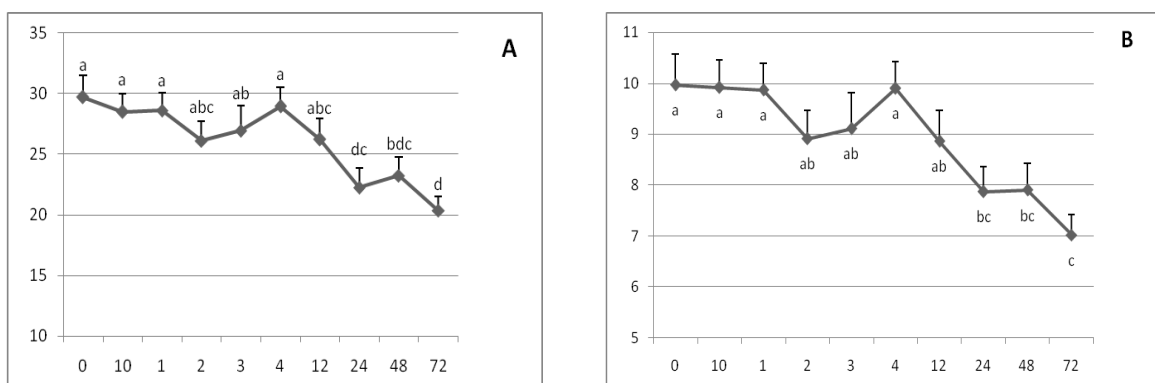
Figura 15 - Valores de hematócrito (%PCV - A) e hemoglobina (g/dL - B) nos distintos grupos experimentais - São Paulo - 2015



a,b,c diferença significativa entre grupos experimentais

Quanto à análise ao longo do tempo, houve redução progressiva dos resultados de hematócrito (Figura 16A) e hemoglobina (Figura 16B) a partir de 4 horas do nascimento ($28.95 \pm 1,59$ %PCV e $9.90 \pm 0,52$ g/ dL, respectivamente, para hematócrito e hemoglobina).

Figura 16 - Valores de hematócrito (%PCV - A) e hemoglobina (g/dL - B) ao longo dos momentos de avaliação - São Paulo - 2015

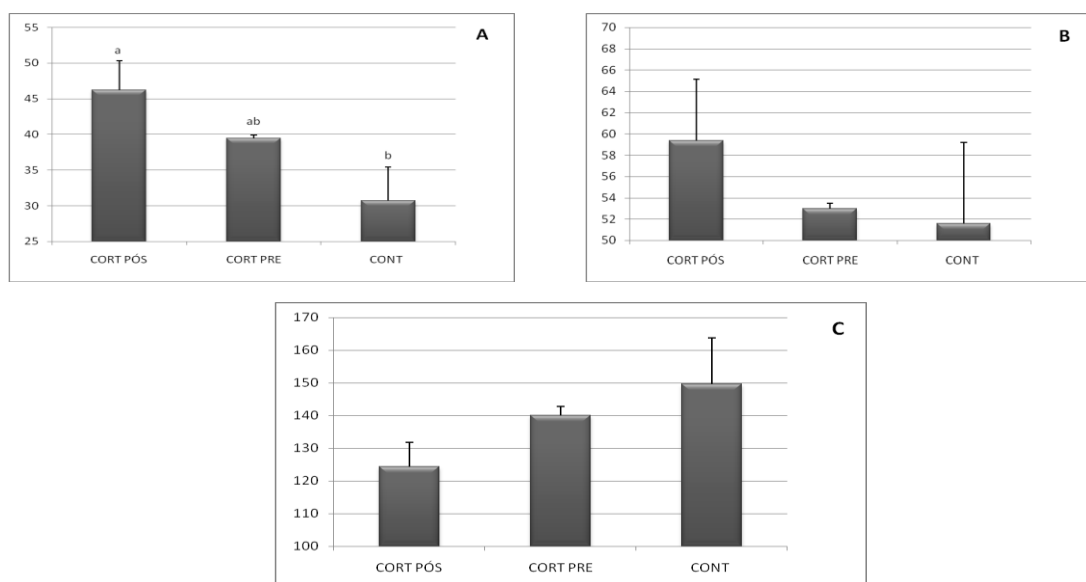


a,b,c,d diferença significativa entre momentos de avaliação.

4.4 ESTRESSE OXIDATIVO E ENZIMAS ANTIOXIDANTES

Na avaliação do perfil oxidativo neonatal, não houve diferença significativa nos resultados de SOD entre os grupos CORT PRÉ e os demais. Porém, o grupo CORT PÓS apresentou valor superior ao do grupo Controle (Figura 17A). Para as variáveis GPX (Figura 17B) e TBARS (Figura 17C), não houve diferença entre os grupos estudados.

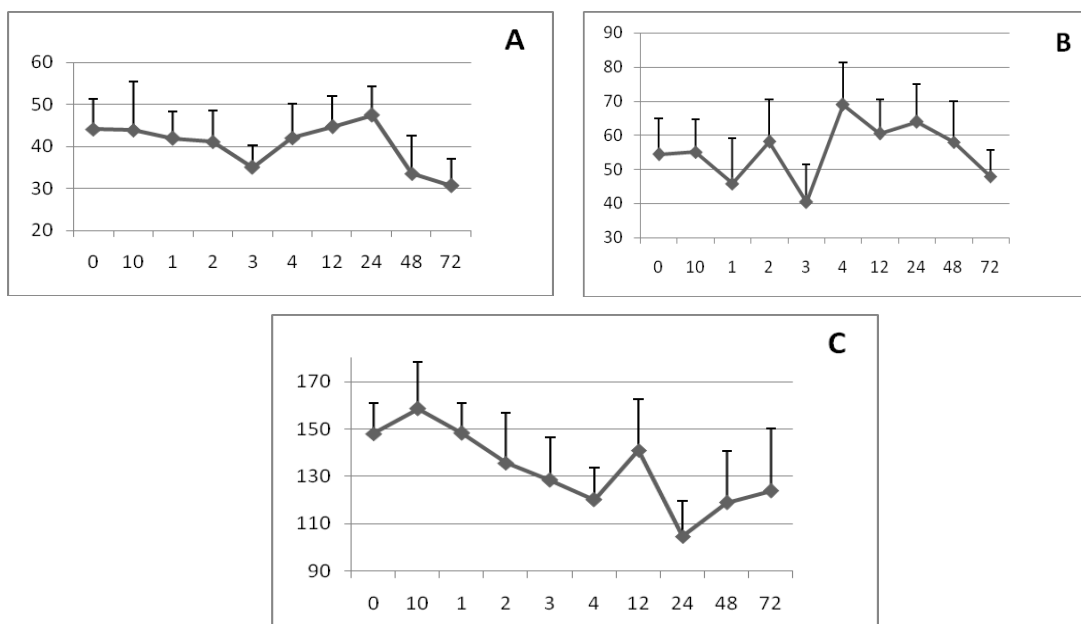
Figura 17 - Concentrações séricas de superóxido dismutase (ng/ mL - A), glutathiona peroxidase (UI/ mL - B) e TBARS (ng/ mL - C) nos diferentes grupos experimentais - São Paulo – 2015



^{a,b} entre grupos indicam diferença estatística ($p < 0,05$)

Não houve diferença significativa nos resultados de SOD (Figura 18A), GPX (Figura 18B) e TBARS (Figura 18C) entre os diferentes momentos de avaliação.

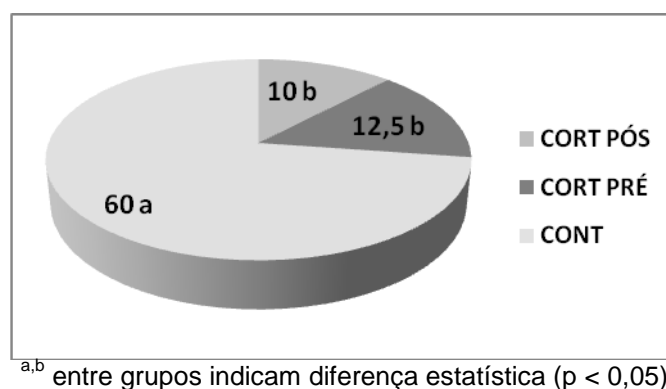
Figura 18 - Concentração da SOD (ng/mL – A), GPX (UI/mL – B) e TBARS (ng/mL – C) ao longo dos momentos de avaliação - São Paulo - 2015



4.5 ASSISTÊNCIA VENTILATÓRIA

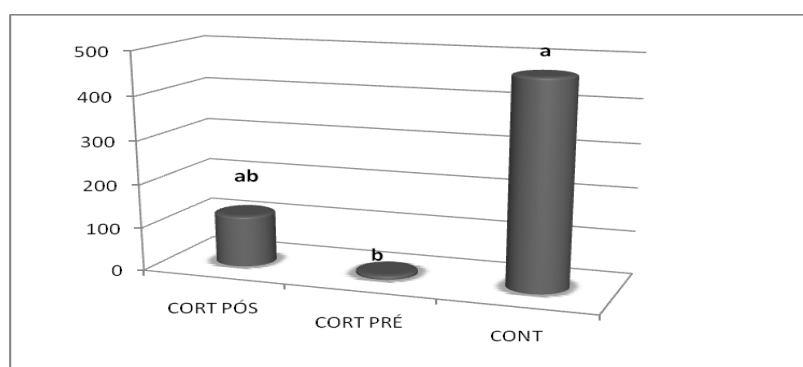
A instituição de alguma modalidade de assistência ventilatória foi necessária em 3 cordeiros do grupo CONT (3/5; 60%), em apenas 1 neonato do grupo CORT PRÉ (1/8; 12,5%) e do grupo CORT PÓS (1/9; 10%). Comparando-se o percentual de cordeiros submetidos à assistência ventilatória, verificou-se maior necessidade no grupo CONT, porém não houve diferença estatística entre os grupos submetidos à corticoterapia (Figura 19).

Figura 19 - Percentual (%) de neonatos submetidos à assistência ventilatória, nos diferentes grupos experimentais - São Paulo - 2015



Em relação ao tempo de permanência sob assistência ventilatória, não houve diferença dos neonatos do grupo CORT PÓS (119 ± 119 min) em relação aos demais grupos. Porém, os neonatos do grupo CORT PRÉ permaneceram por tempo menor sob assistência ventilatória, em relação ao grupo Controle ($9,38 \pm 9,38$ min e $469 \pm 237,32$ min, respectivamente) (Figura 20).

Figura 20 - Tempo de permanência na ventilação (min) nos diferentes grupos experimentais - São Paulo - 2015



^{a,b} entre grupos indicam diferença estatística ($p < 0,05$)

Não houve diferença significativa entre os grupos quanto ao intervalo de tempo entre o nascimento e o início da assistência ventilatória ($1,11 \pm 1,11$ min; $1,25 \pm 1,25$ min; $153 \pm 149,26$ min, respectivamente, nos grupos CORT PÓS, CORT PRÉ e controle).

4.6 MORTALIDADE NEONATAL

Diante do pequeno número de óbitos neonatais nos diferentes grupos experimentais, a avaliação da variável mortalidade será expressa de forma descritiva. Os óbitos ocorreram somente nos neonatos submetidos à ventilação, ou seja, nos animais que apresentavam grave comprometimento clínico (Quadro 1). O número de óbitos apresentou pouca variação entre os grupos, sendo 0, 1 e 1 óbito nos grupos CORT PRÉ, CORT PÓS e CONT, respectivamente.

4.7 ANÁLISE DE CORRELAÇÃO

Para o grupo de neonatos submetidos ao tratamento pós-natal (CORT PÓS) com betametasona, houve correlação negativa entre as variáveis escore Apgar e PCO_2 , HCO_3^- e BE; escore de coloração de mucosas com HCO_3^- e BE e correlação positiva entre os valores de hematócrito e hemoglobina com as concentrações séricas de SOD e bicarbonato (Tabela 7).

Tabela 7 - Correlação de Spermán para os neonatos do grupo CORT PÓS – São Paulo - 2015

		r	p
Escore Apgar	PCO_2	-0,76	0,076
	HCO_3^-	-0,85	0,03
	BE	-0,79	0,059
Coloração de Mucosa	HCO_3^-	-0,92	0,008
	BE	-0,83	0,04
Hematócrito	HCO_3^-	0,77	0,07
	SOD	1	<0001
Hemoglobina	HCO_3^-	0,77	0,07
	SOD	1	<0001

No grupo controle (CONT), houve correlação negativa entre escore Apgar e a necessidade de assistência ventilatória; percentual de cordeiros ventilados e escore Apgar, tônus muscular, frequência cardíaca e frequência respiratória. Correlações positivas foram observadas entre o escore de coloração de mucosa com a frequência cardíaca e frequência respiratória, bem como entre a frequência cardíaca e frequência respiratória (Tabela 8).

Tabela 8 - Correlação de Spermán para os neonatos do grupo controle – São Paulo - 2015

		R	p
Percentual de cordeiros ventilados	Escore de tónus muscular	-0,97	0,006
Escore de coloração de mucosa	FC	0,87	0,06
	FR	0,89	0,04
FC	FR	1	<0001

No grupo CORT PRÉ, observamos correlação positiva entre a FR e o escore de tónus muscular; temperatura corpórea e SO_2 e pO_2 (Tabela 9).

Tabela 9 - Correlação de Spermán para os neonatos do CORT PRÉ – São Paulo - 2015

		r	p
FR	TM	0,76	0,03
Temperatura corpórea	SO_2	-0,83	0,01
	PO_2	0,9	0,002

Discussão

5 DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA, METABÓLICA E GASOMÉTRICA

Em literatura especializada, é imperativo o efeito benéfico da administração materna pré-natal de betametasona, em ciclo único, na melhora da condição pulmonar de neonatos humanos, assim como de cordeiros prematuros utilizados como modelo experimental. Por outro lado, vale destacar que em tais estudos as avaliações são realizadas em curto intervalo de tempo após o nascimento, e culminam, em sua grande maioria, em eutanásia como condição experimental. Deste modo, avaliar o efeito de diferentes protocolos indutores de maturação fetal e neonatal, ao longo dos primeiros dias de vida é ainda conduta salutar para o desenvolvimento dos cuidados intensivistas direcionados aos neonatos ovinos.

No presente estudo, observamos efeito benéfico do tratamento com betametasona pré e pós-natal na vitalidade de cordeiros prematuros extremos. Loehle et al. (2010) demonstraram que a utilização de corticóide no período pré-natal resulta em melhora na condição morfológica e funcional dos pulmões de neonatos ovinos pré-termos, com maior septação pulmonar e formação de áreas de troca gasosa. Resultados semelhantes foram descritos por Regazzi (2011) para neonatos caninos prematuros, a qual correlacionou maior vitalidade neonatal com o desenvolvimento estrutural pulmonar, após administração materna pré-natal de betametasona. Deste modo, acreditamos que os melhores resultados de frequência respiratória e de $p\text{CO}_2$ observados no grupo CORT PRÉ refletem o efeito de maturação da betametasona. Portanto, tais dados justificam os resultados satisfatórios de vitalidade neonatal observados no grupo submetido à corticoterapia materna antenatal no presente estudo.

Evidenciamos, ademais, que cordeiros tratados com betametasona após o nascimento apresentam vitalidade superior ao controle. Tais achados podem ser comparáveis aos estudos de metanálise em Medicina, os quais relacionam melhora pontual na condição pulmonar e clínica de neonatos frente à utilização de dexametasona no período pós-natal (HALLIDAY et al., 2003; HALLIDAY et al., 2003). De fato, no presente estudo, o escore Apgar do grupo CORT PÓS

apresentou correlação negativa com a variável respiratória $p\text{CO}_2$, e metabólicas HCO_3^- e BE. Tal resultado denota influencia dos padrões respiratórios e do sistema tampão no perfil de vitalidade de cordeiros prematuros tratados com betametasona no período pós-natal. Deste modo, é possível inferir que a melhora no padrão de vitalidade dos cordeiros submetidos à corticoterapia pós-natal deve-se à ação dos glicocorticoides no controle e prevenção de processos inflamatórios pulmonares, favorecendo as trocas gasosas e conseqüente recuperação do desequilíbrio ácido básico na primeira hora após o nascimento.

Segundo Feitosa (2008), mucosas de coloração cianóticas sinalizam severa hipoxemia, enquanto palidez reflete hipoperfusão ou anemia. Em nosso estudo, não foi possível identificar influência da corticoterapia pré ou pós-natal na pontuação da coloração de mucosas aparentes. Entretanto, ao avaliarmos a evolução ao longo do tempo, pontuações reduzidas foram identificadas independente do grupo experimental, com aumento significativo aos 60 minutos, porém sem atingir o escore máximo. Em neonatos caninos, todavia, Silva et al. (2008) observaram que a avaliação das mucosas aparentes não permite a identificação de graus leves de alterações cardiopulmonares. Por outro lado, em nosso grupo controle, identificamos correlações positivas entre o escore de coloração de mucosas e as frequências cardíaca e respiratória ($r=0,87$; $p=0,06$ e $r=0,89$; $p=0,04$, respectivamente). Tal resultado permite inferir que há influencia da oxigenação e perfusão no aspecto das mucosas aparentes, sugerindo a inspeção de mucosas como acessória à identificação de alterações de oxigenação, e conseqüente perfusão tecidual, em neonatos ovinos. De forma semelhante, Regazzi (2011) identificou correlação positiva entre a coloração de mucosas aparentes e o desenvolvimento da estrutura pulmonar de troca gasosa (subsáculos pulmonares) em neonatos prematuros caninos.

É interessante ressaltar, ademais, que no grupo de neonatos tratados com betametasona pós-natal, houve correlações negativas entre o escore de coloração de mucosas e variáveis da hemogasometria, tais como a TCO_2 ($r=-0,92$; $p=0,008$), HCO_3^- ($r=-0,92$; $p=0,008$) e BE ($r=-0,83$; $p=0,04$). Disto demonstra que, em cordeiros tratados com betametasona após o nascimento, o distúrbio metabólico e respiratório do equilíbrio ácido-base pode interferir diretamente na perfusão e oxigenação de tecidos periféricos, sinalizando a necessidade de investigação diagnóstica e, eventualmente, intervenção médica. De fato, de acordo com Day (2002), a avaliação

clínica de coloração de mucosas aparentes em associação às importantes ferramentas de acesso às condições cardiopulmonares (SO_2 , PaO_2) e de perfusão tecidual (PvO_2), contribuem para o diagnóstico diferencial de alterações neonatais com origens distintas.

Neonatos pré-termos apresentam reduzida maturidade do sistema nervoso central (SNC) em relação aos termos, com menor número de sulcos e giros do encéfalo, menor mielinização, arborização dendrítica e das terminações axonais (FRIEDMAN; SHINWELL, 2004), levando a mudanças no padrão de comportamento neurológico (SCOCHI et al., 2003). No presente experimento, utilizamos as variáveis clínicas de tônus muscular e irritabilidade reflexa como função de acesso às condições neuro-motoras dos cordeiros submetidos ao tratamento de betametasona pré ou pós-natal. Verificamos que ambos os tratamentos representam uma forma de estímulo ao desenvolvimento de tônus muscular em cordeiros prematuros, em comparação ao controle, especialmente para a corticoterapia materna pré-natal. De fato, os efeitos benéficos do ciclo único de betametasona pré-natal sobre o SNC neonatal são relatados em vários estudos randomizados controlados, os quais envolvem maior estabilidade de pressão sanguínea cerebral, com redução da incidência de afecções como hemorragia periventricular e leucomalácia periventricular (BAUD et al., 1999). Deste modo, os melhores resultados de escore de tônus muscular nos neonatos tratados no período pré e pós-natal, em nosso experimento, parecem estar relacionados aos efeitos protetores e/ou favoráveis ao SNC. Porém, cabe ressaltar que tais resultados estão vinculados à dose única da betametasona, pois ciclos múltiplos, em contrapartida, estão associados à significativa restrição no desenvolvimento do SNC, diminuição do peso cerebral, menor número de células nervosas e giros do encéfalo e deficitária mielinização de axônios, por indução de efeito apoptótico (UNO et al., 1990; RIVA et al., 1995; KUTZLER et al., 2004). Com relação à corticoterapia pós-natal, também são observados efeitos deletérios de múltiplas administrações, tais como aumento da taxa de anormalidades neuromotoras e neonatos com paralisia cerebral (YEH et al., 1998; SHINWELL et al., 1999). Deste modo, os efeitos resultantes da ação dos corticosteróides exógenos no desenvolvimento do SNC parecem estar vinculados à dose e à potência do esteróide utilizado. Ademais, a hiperglicemia responsiva à corticoterapia em nosso estudo pode favorecer o desempenho muscular, haja vista

ser um importante substrato energético para o desempenho das atividades musculares.

No que tange ao sistema cardiovascular neonatal, o recém-nascido apresenta, fisiologicamente, baixo volume sanguíneo, pressão e resistência vascular periférica (ADELMAN; WRIGHT, 1985). Desta forma, para que a perfusão sanguínea periférica seja mantida, há aumento compensatório da frequência e débito cardíaco (GRUNDY, 2006). Entretanto, por haver inervação simpática e parassimpática imatura do miocárdio, o controle neurológico cardiogênico é parcial. Deste modo, episódios de bradicardia não derivam de estímulo vagal e, sim, de hipoxemia prolongada (GRUNDY, 2006). De fato, verificamos haver correlação positiva ($r=0,87$; $p=0,05$) entre a frequência cardíaca e respiratória em cordeiros do grupo controle, além de discretas bradicardia (108 ± 10 bpm) e bradipneia (26 ± 5 mpm) ao nascimento. Portanto, acreditamos que o quadro prolongado de hipoxemia fetal e neonatal relacionados à prematuridade, representados por baixos valores de SO_2 e PO_2 , culminaram em bradicardia neonatal, observados imediatamente ao parto.

À comparação entre os grupos experimentais, notamos que o tratamento com betametasona pode contribuir para a melhora no desempenho cardio-respiratório de cordeiros prematuros. Schwab, Coksaygan e Nathanielsz (2006) descrevem que a betametasona, utilizada no período pré-natal em ovelhas, promove aumento da resistência vascular periférica e, conseqüentemente, aumento na pressão arterial fetal. Ademais, a corticoterapia é capaz de induzir diretamente o aumento da frequência cardíaca fetal, por potencializar a ação das catecolaminas e, portanto, contribuir adicionalmente para o aumento da pressão arterial fetal (SCHWAB; COKSAYGAN; NATHANIELSZ, 2006). Já Wood, Cheung e Brace (1987) relatam que, embora haja melhora na pressão arterial e débito cardíaco de cordeiros em resposta à administração fetal de glicocorticoides, observou-se diminuição da frequência cardíaca. No presente experimento, notamos que a administração pré-natal de betametasona promoveu menor frequência cardíaca em relação à administração pós-natal, sugerindo interferência do sistema cardiovascular materno sobre a mudança hemodinâmica desencadeada pela betametasona, e atuação em inervação simpática quando administrada diretamente ao recém-nascido.

Em nosso experimento, os cordeiros apresentaram bradipnéia ao nascimento, com valores semelhantes aos de neonatos termos apenas após 10 minutos. Tais resultados ocorreram simultaneamente à hipoxemia (baixos valores de SO_2 e PO_2) e

bradicardia. Entretanto, notamos que a corticoterapia pré ou pós-natal foi capaz de induzir maior frequência respiratória, em relação ao grupo controle. Acreditamos que tal efeito seja resultado da maturação de mecanismos envolvidos nos processos respiratórios, como os quimiorreceptores e barorreceptores carotídeos de O_2 sanguíneo e capacidade de expansão alveolar (GRUNDY, 2006). Adicionalmente, os melhores resultados de pCO_2 foram observados após 1 hora de vida no grupo com corticoterapia pré-natal. É interessante notar que neste grupo houve correlação positiva entre a frequência respiratória e o escore de tônus muscular ($r=0,76$; $p=0,03$). Disto demonstra que a betametasona administrada antenatal favorece os mecanismos respiratórios ao nascimento e, conseqüentemente, tornam os efeitos compensatórios do desequilíbrio ácido-base mais eficientes no período neonatal, promovendo maior desenvolvimento neuro-motor. Deste modo, a maior frequência respiratória, observada nos cordeiros submetidos à corticoterapia, representa efeito benéfico da betametasona na melhora da função pulmonar, determinando queda da PCO_2 e aumento progressivo da PO_2 e SO_2 .

Acerca da homeotermia após o nascimento, esta pode ser alcançada por aumento da atividade metabólica, representada pela capacidade de tremor e pelo controle vascular, com redução do fluxo sanguíneo para as extremidades e pele (BATCHELDER et al., 2007), além do mecanismo de termogênese por meio da oxidação do tecido adiposo marrom (LANDIM-ALVARENGA, 2006). Deste modo, as menores reservas de tecido adiposo marrom, presentes em cordeiros prematuros de baixo peso (SYKES, 1982; NOWAK; POIDRON, 2006) justificam o comportamento térmico dos grupos estudados, pois observamos hipotermia ao longo do primeiro dia de vida, com queda abrupta da temperatura corpórea logo após o nascimento. Entretanto, os tratamentos com betametasona parecem atuar aumentando a atividade termogênica, haja vista os maiores valores de temperatura corpórea, quando comparado ao grupo controle. Sabe-se que o cortisol é capaz de potencializar a atividade das catecolaminas, com resultante vasoconstrição e aumento da resistência vascular periférica, e menor perda de calor corpóreo (ULRICH-LAI; HERMAN. 2009). Ainda, a elevação nos níveis de catecolaminas e glicocorticoides é capaz de estimular atividades metabólicas produtoras de energia e calor, tais como geração de ácidos graxos livres, por lipólise, como fonte importante de energia (ULRICH-LAI et al., 2009). Em nosso estudo, os neonatos tratados com betametasona apresentaram maior escore de tônus muscular, podendo o aumento

das contrações musculares contribuir para a elevação da temperatura corpórea. Neste sentido, acreditamos que o resultado superior de temperatura corpórea nos grupos tratados com corticoterapia, em relação ao controle, esteja relacionado às alterações vasculares, metabólicas e da atividade muscular, resultantes da ação da betametasona.

Para os cordeiros tratados com corticoterapia pré ou pós-natal, foi observada hiperglicemia, especialmente para o grupo de tratamento pós-natal. Os glicocorticóides estimulam diretamente o metabolismo hepático de carboidratos (CHAN et al., 1993), aumentando a gliconeogênese hepática, por meio da estimulação da enzima glicose-6-fosfatase e fosfoenolpiruvato carboxiquinase. Ademais, o cortisol apresenta antagonismo às células β pancreáticas diminuindo a produção da insulina e conseqüente utilização periférica da glicose pelas células, colaborando para o aumento da glicemia (ANDREWS; WALKER, 1999). De fato, a administração de cortisol em ovelhas aos 130 dias de gestação induziu a hiperglicemia fetal (FOWDEN et al., 1993). Em roedores, o tratamento materno com glicocorticóides sintéticos ao final da gestação resultou em aumento do glicogênio hepático fetal. Com base em tais assertivas, os resultados glicêmicos obtidos neste experimento nos permitem inferir atuação da betametasona, administrada pré ou pós-natal, no metabolismo hepático de carboidratos, pancreático de insulina e sistêmico de glicose, com resultante hiperglicemia em cordeiros prematuros. Ademais, é importante fazer a distinção entre os efeitos glicêmicos da exposição pré e pós-natal à betametasona. Acreditamos que a administração de betametasona diretamente ao neonato resultou em efeito agudo nos valores glicêmicos, com maior mobilização hepática de glicogênio e, conseqüentemente, maior taxa glicêmica, resultado não observado na corticoterapia pré-natal.

O surgimento da acidose, resultante de hiperlactatemia, está relacionado ao desequilíbrio entre a oferta e consumo de oxigênio, presente nas disfunções cardiorrespiratórias ou em situação de elevado requerimento metabólico de oxigênio com limitada capacidade pulmonar (GRUNDY, 2006; HUGHES, 2006). Esta combinação de fatores eleva o metabolismo anaeróbio e produção de lactato. Com base em tais assertivas, podemos relacionar os elevados valores de lactato, em todos os grupos experimentais, às particularidades fisiológicas neonatais, agravadas pela condição de prematuridade. Entretanto, à comparação dos grupos, evidenciamos que a hiperlactatemia é superior no grupo tratado com betametasona

no período pós-natal, em relação ao grupo controle. Somado ao maior requerimento neonatal de oxigênio, a betametasona atua como indutora da maturação sistêmica e tecidual (WILLET et al., 1999), resultando em aumento do metabolismo e respiração celular e, conseqüentemente, maior consumo de oxigênio. Portanto, podemos inferir que os valores significativamente mais elevados de lactato, observados no grupo CORT PÓS, estejam relacionados à administração direta da betametasona ao neonato, promovendo, deste modo, acentuado incremento na atividade metabólica celular durante os primeiros dias após parto. Já no grupo CORT PRÉ, o efeito agudo da betametasona (maior demanda metabólica e oxigenação celular) ocorreu ainda durante o período gestacional, evitando a elevação dos níveis de lactato sanguíneo no período pós-natal.

5.2 EQUILIBRIO ÁCIDO-BÁSICO NEONATAL

Na avaliação hemogasométrica neonatal, independente do grupo experimental, identificamos acidemia ao nascimento, assim como alterações nos valores de BE e PCO_2 , configurando acidose do tipo mista (metabólica e respiratória) na prematuridade. Entretanto, a regularização do pH sanguíneo aos 60 min, embora ainda houvesse desequilíbrio metabólico (BE), sinaliza eficácia do sistema tampão sanguíneo nos cordeiros prematuros. Somente após 4 horas de vida, os cordeiros apresentaram equilíbrio ácido-base, com normalização do BE, pois entendemos que as bases-tampão do sangue foram consumidas para a compensação metabólica e manutenção do pH.

Diversos estudos evidenciam melhora na estrutura pulmonar (WILLET et al., 1999; LOEHLE et al., 2010), nos padrões respiratórios e de troca gasosa em cordeiros submetidos à corticoterapia pré-natal. Desta maneira, é possível inferir que a compensação da hipercapnia ao nascimento, ocorrida após 1 hora nos cordeiros submetidos à corticoterapia pré-natal, deve-se à melhora na condição ventilatória pulmonar em relação aos demais grupos. Logo, a corticoterapia pré-natal promoveu mudanças estruturais e funcionais pulmonares, as quais propiciaram melhor resposta adaptativa já na primeira hora de vida, resultado não observado à utilização da corticoterapia pós-natal. Por outro lado, ao analisar os valores de SO_2 e PO_2 , não

foi possível identificar padrão de melhora na oxigenação, vinculada à administração pré ou pós-natal de betametasona. No que se refere à administração pré-natal de betametasona, há evidências de sua influência na vascularização fetal, promovendo aumento da pressão arterial e vasoconstrição periférica, a despeito do menor fluxo sanguíneo nos vasos do cordão umbilical, suprimento fetal de oxigênio, nutrientes e desequilíbrio ácido-básico (SCHWAB; COKSAYGAN; NATHANIELSZ, 2006). Por outro lado, nossos resultados permitem inferir que não houve efeito deletério da corticoterapia pré-natal sobre a vascularização umbilical e oxigenação fetal, pois não observamos diferença significativa entre os grupos para os dados de SO_2 , PO_2 e pH nos cordeiros prematuros.

5.3 HEMATÓCRITO E HEMOGLOBINA

As respostas aos fatores de estresse são mediadas, de forma complementar, pelo sistema nervoso autônomo (SNA) e pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) (ULRICH-LAI; HERMAN, 2009). As catecolaminas são responsáveis por ações rápidas, enquanto os glicocorticóides atuam de forma lenta, com pico de produção minutos após o início do estresse (JOËLS; BARAM, 2009). Dentre a cascata de eventos decorrente do aumento nos níveis circulantes de cortisol, ocorre aumento da contratilidade esplênica, com o objetivo de aumentar o número de hemácias circulantes como medida protetora (DUKES, 1993; PETERSON, 1998) e, conseqüentemente, aumentar a oxigenação tecidual. Em relação ao perfil hematológico dos neonatos deste estudo, foi possível identificar resultados superiores de hematócrito e hemoglobina nos grupos tratados com betametasona pós-natal. Portanto é possível atribuir ao tratamento com betametasona resposta hematogênica aguda, com aumento de hematócrito e hemoglobina por possível mecanismo de contração esplênica.

Para o grupo CORT PÓS, observamos correlação positiva entre os valores de hematócrito e hemoglobina com as concentrações sanguíneas de bicarbonato. Conforme salientado anteriormente, os resultados do presente estudo mostram que cordeiros tratados com betametasona no período pós-natal apresentam aumento de suas atividades metabólicas teciduais, as quais exigem maior demanda por oxigênio

celular. A resposta orgânica a tal exigência é o aumento do hematócrito e hemoglobina para o efetivo transporte tecidual de oxigênio. Entretanto, a metabolização tecidual do oxigênio resulta na formação de moléculas de CO₂ e, conseqüentemente, bicarbonato e H⁺, justificando o aumento dos níveis sanguíneos de bicarbonato quando há incremento do hematócrito e hemoglobina. Adicionalmente, observamos correlação positiva entre as concentrações séricas de SOD e os valores de hematócrito e hemoglobina no grupo CORT PÓS. Para contemplar as necessidades teciduais de aporte de oxigênio, o concomitante aumento na concentração da enzima SOD expressa resposta equilibrada da defesa antioxidante neonatal como controle dos possíveis efeitos lesivos do oxigênio em diferentes tecidos.

5.4 ASSISTÊNCIA VENTILATÓRIA

No presente estudo, notamos que o tratamento pré ou pós-natal com betametasona influenciou positivamente a necessidade de assistência ventilatória em cordeiros prematuros. Do mesmo modo, o tempo de permanência sob assistência ventilatória foi estatisticamente menor nos cordeiros submetidos à corticoterapia pré-natal, em relação aos animais não tratados. A corticoterapia materna pré-natal produz uma série de efeitos benéficos estruturais e funcionais pulmonares, os quais promovem melhor capacidade de troca gasosa, complacência pulmonar, redução do processo inflamatório pulmonar, resultando em menor necessidade de intervenções emergenciais em neonatos humanos prematuros (TANSWELL et al., 1991; JAARSMA et al., 2004). De fato, no grupo tratado com betametasona pré-natal, identificamos correlação negativa entre o número de cordeiros ventilados e a frequência respiratória. Portanto, podemos inferir que a menor ocorrência de ventilação neonatal e o menor tempo de permanência sob assistência ventilatória estão relacionados ao efeito indutor de maturação pulmonar da betametasona, com desenvolvimento de estruturas que favorecem o padrão respiratório.

No que tange à utilização pós-natal de corticosteróide, é reconhecida sua atuação no controle e prevenção de alterações pulmonares crônicas em neonatos ventilados, por reduzir a injúria pulmonar, processo inflamatório e Displasia

Broncopulmonar (FRIEDMAN; SHINWELL, 2004). O processo inflamatório inibe a função do surfactante diretamente, inativando-o ou, pela ação indireta, ao induzir o extravasamento proteico alveolar, o qual restringe a ação do surfactante (KOBAYASHI et al., 1991; RIMENSBERGER, 2002). Por este motivo, indica-se a administração de dexametasona pós-natal como método terapêutico para neonatos em suporte ventilatório, reduzindo o tempo necessário para o desmame ventilatório e a incidência de Displasia Broncopulmonar (HALLIDAY et al., 2003). Entretanto, em nosso estudo, a corticoterapia pós-natal foi utilizada nos cordeiros prematuros logo ao nascimento, na ausência de assistência ventilatória. Portanto, acreditamos que o número reduzido de cordeiros indicados à ventilação no grupo corticoterapia pós-natal, em comparação ao controle, possa estar relacionado à redução de complicações inflamatórias e oxidativas pulmonares, por efeito benéfico agudo do acetato de betametasona. De fato, acreditamos que a betametasona esteja envolvida no controle do estresse oxidativo pulmonar, por meio do aumento da atividade enzimática da superóxido desmutase (SOD), a qual reduziu os efeitos lesivos das espécies reativas de oxigênio e, conseqüentemente, dos danos pulmonares.

Silva (2012) descreveu agravamento clínico e alta taxa de mortalidade nas primeiras horas de vida de cordeiros prematuros não submetidos a protocolos preventivos ou curativos da imaturidade pulmonar. Do mesmo modo, observamos, no grupo controle, maior percentual de cordeiros com quadro clínico grave, indicados ao suporte ventilatório, o qual garantiu sobrevivência a 66,6% dos neonatos ventilados. Ademais, observamos correlação negativa do percentual de cordeiros ventilados com os valores de Apgar, tônus muscular, frequência cardíaca, frequência respiratória e peso neonatal. Desta forma, a indicação aos protocolos de ventilação (necessidade de suporte ventilatório) está relacionada à baixa vitalidade neonatal, especialmente por imaturidade do sistema nervoso central e cardiopulmonar.

Em medicina humana, não há relatos que atestem o benefício significativo sobre a redução da mortalidade neonatal após a administração de dexametasona pós-natal (FRIEDMAN; SHINWELL, 2004). Entretanto, a betametasona pré-natal está relacionada à redução da morbi-mortalidade em UTIs neonatais (LEVITON et al., 1999). Em nosso experimento, apesar da equivalente resposta de vitalidade e necessidade de assistência respiratória entre as vias de tratamento materna e

neonatal, o grupo CORT PRÉ resultou em menor número de óbitos (0) em relação ao grupo CORT PÓS (1 óbito). Entretanto é importante salientar que o baixo número de animais por grupo não nos permitiu atribuir diferença estatística quanto à taxa de mortalidade neonatal.

5.5 ESTRESSE OXIDATIVO NEONATAL

No período imediato ao nascimento, os neonatos são expostos ao ambiente hiperóxico, dando início ao metabolismo aeróbico, com produção de espécies reativas ao oxigênio na cadeia respiratória mitocondrial (VLESSIS; MELA-RIKER, 1989). Tal situação é ainda mais proeminente na prematuridade, diante da maior necessidade de oxigenioterapia pós-natal. As alterações morfológicas decorrentes da inalação de concentrações elevadas de oxigênio caracterizam-se por achados histológicos agudos: atelectasia, inflamação, congestão vascular e edema alveolar, decorrentes da geração de espécies reativas de oxigênio (CRAPO, 1986; CLAYTON et al., 2001). Ademais, Dursun et al. (2015) observaram que neonatos termos e pré-termos submetidos ao suporte ventilatório nas modalidades SIMV e CPAP apresentaram maior estresse oxidativo e menor capacidade antioxidante total, quando comparado ao período pós-ventilação. No presente estudo, não observamos diferença entre os grupos experimentais quanto aos valores de estresse oxidativo (TBARS) e na concentração da enzima glutathiona peroxidase (GPX). Entretanto, na avaliação da enzima superóxido dismutase (SOD), o grupo com corticoterapia pós-natal apresentou valor superior ao grupo controle. Clayton et al. (2001) e Bowler et al. (2002) referem-se à enzima SOD como a maior antagonista da injúria oxidativa pulmonar. Dani et al. (2009), ao comparar o estresse oxidativo pulmonar de cordeiros prematuros submetidos à ventilação, terapia com corticóide e surfactante, observaram que este último tratamento associativo acarretou menor estresse oxidativo e inflamação do parênquima pulmonar, com melhor desempenho respiratório neonatal. Corroborando tais dados, observamos em nosso estudo efeito benéfico da corticoterapia pós-natal sobre a concentração da enzima SOD, embora sem diferença estatística dos produtos da peroxidação lipídica nos grupos estudados. Vale ressaltar que, no grupo corticoterapia pós-natal, as concentrações

sélicas de SOD correlacionaram negativamente com as variáveis SO_2 , PO_2 e pH; e positivamente com a pCO_2 . Desta forma, acreditamos que a betametasona esteja envolvida na regulação do mecanismo antioxidante neonatal, estimulando a atividade da enzima SOD pelos pulmões, favorecendo as trocas gasosas e reduzindo as complicações da intervenção ventilatória.

Embora Johan et al. (2009) tenham descrito supressão aguda da atividade da enzima antioxidante GPx após a corticoterapia materna pré-natal, nossos resultados não demonstram influência da betametasona, quando administrada 48 horas prévias à data do parto. Entretanto, é importante ressaltar que, para a avaliação do status oxidativo sanguíneo, amostras sorológicas não são reconhecidas como meios de eleição, haja vista o maior número de componentes protéicos. Para tanto, o citosol intra-celular de hemácias é o meio biológico recomendado (VENTO et al., 2003). Desta maneira, estudos futuros devem ser conduzidos com amostras biológicas fidedignas para acurada assertiva quanto ao perfil da enzima antioxidante GPx após a corticoterapia pré ou pós-natal.

Conclusão

6 CONCLUSÃO

Em vista dos resultados obtidos, concluímos que:

1. A corticoterapia pós-natal ou pré-natal favorece a condição clínica neonatal (vitalidade, tônus muscular e funções vitais), a função pulmonar (trocas gasosas e compensação aos desequilíbrios ácido-básicos) e a atividade metabólica (controle glicêmico). Entretanto, a atividade cardiogênica mostrou-se diferenciada quando a administração de betametasona é materna ou neonatal (efeitos depressores vinculados à corticoterapia pré-natal e efeito taquicárdico na corticoterapia pós-natal).
2. O tratamento com betametasona pós-natal ou materna pré-natal diminui a necessidade de assistência ventilatória em cordeiros prematuros extremos.
3. A taxa de mortalidade neonatal é baixa quando são utilizados protocolos de indução de maturidade pulmonar (corticoterapia pré ou pós-natal) e/ou intervenções ventilatórias, os quais garantem a sobrevivência de cordeiros prematuros extremos.

Referências

REFERÊNCIAS

- ADELMAN, R. D.; WRIGHT, J. Systolic blood pressure and heart rate in the growing beagle puppy. **Devel Pharm Therap**, v. 8, p. 396-401, 1985.
- ALMEIDA, M. F. B.; GUINSBURG, R. Programa de reanimação neonatal da **Soci Brasil de Ped**: condutas 2011. 2011. Disponível em: <<http://www.sbp.com.br/pdfs/PRN-SBP-Reanima%C3%A7%C3%A3oNeonatalFinal-2011-25mar11.pdf>>. Acesso em: 10 set. 2015.
- ANDREWS, R. C.; WALKER, B. R. Glucocorticoids and insulin resistance: old hormones, new targets. **Clin Sc**, v. 96, p. 513–523, 1999.
- AVERY, M. E. Pharmacological approach to the acceleration of fetal lung maturation. **Br Med Bull**. v. 31, p. 13–7, 1975.
- BATCHELDER, C. A.; BERTOLINI, M.; MASON, J. B.; MOYER, A. L.; HOFFERT, K. A.; PETKOV, S. G.; FAMULA, T. R.; ANGELOS, J.; GEORGE, L. W.; ANDERSON, G. B. Perinatal physiology in cloned and normal calves: physical and clinical characteristics. **Clon Stem Cel**, v.9, n.1, p.63-83, 2007.
- BAUD, O.; FOIX-L'HELIAS, L.; KAMINSKI, M.; AUDIBERT, F.; JARREAU, P.H.; PAPIERNIK, E. Antenatal glucocorticoid treatment and cystic periventricular leukomalacia in very premature infants. **N Engl J Med**. v. 6, p. 341:1190, 1999
- BECK, J. C.; MITZNER, W.; JOHNSON, J. W. C.; HUTCHINS, G. M.; FOIDART J. M.; LONDON, W. T.; PALMER, A. E.; SCOTT, R. Betamethasone and the rhesus fetus: effect on lung morphometry and connective tissue. **Ped Res.**, v. 15, p. 235- 40, 1981.
- BITTAR, R. Distúrbios Respiratórios. In: RUGOLO, L. M. S. **Manual de neonatologia**. São Paulo: Revinter, 2000, p. 103-123.
- BOLT, R. J.; WEISSENBRUCH, V.; LAFEBER, H. N.; WALL, H. A. D. Glucocorticóides and lung development in the fetus and preterm infant. **Ped Pulmon**, v. 32, p. 76-91, 2001.
- BONANNO, C.; WAPNER, R. Antenatal corticosteroid treatment: what's happened since Drs Liggins and Howie?. **Am Jour Obstet Gynec**, v. 200, n. 4, p. 448-457, 2009.

- BOWLER, R. P.; NICKS, M.; WARNICK, K.; CRAPO, J. D. Role of extracellular superoxide dismutase in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, v. 282, n. 4, p. 719-726, 2002.
- CASTAGNETTI, C.; PIRRONE, A.; MARIELLA. Venous blood lactate evaluation in equine neonatal intensive care. **Theriogenology**, v.73, p.343-357, 2010
- CHAIWORAPONGSA, T.; HONG, J. S.; HULL, W. M.; ROMERO, R.; WHITSETT, J. A. Amniotic fluid concentration of surfactant proteins in intra-amniotic infection. **J Mat Fet Neon Medic**, v. 21, n. 9, p. 663-670, 2008.
- CHAN, W. W.; LONKER, F. H.; RAUSCH, W. D.; TAVERNE, M. A. M. Plasma catecholamines and blood chemistry in newborn calves in relation to different obstetrical procedures and to neonatal outcome. **Anim Repr Sc**, v.34, n.1, p.43-54, 1993
- CLAYTON, C. E.; CARRAWAY, M. S.; SULIMAN, H. B.; THALMANN, E.D.; THALMANN, K.N.; SCHMECHEL, D.E.; PIANTADOSI, C.A. Inhaled carbon monoxide and hyperoxic lung injury in rats. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, v. 281, n. 4, p. 949-957, 2001.
- COMLINE, R. S.; SILVER, M. The composition of foetal and maternal blood during parturition in the ewe. **J Physiol**, v. 222, p. 233-256, 1972.
- COSTA, M. J. R. P.; QUEIROZ, S.A.; RIBEIRO, J. L. C. Avaliação de alguns aspectos do desempenho de ovinos Morada Nova na região de Franca-SP. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 19, n.4, p. 341-346, 1990.
- CRAPO, J. D. Morphologic changes in pulmonary oxygen toxicity. **Rev Physiol**, v. 48, n. 1, p. 721-731, 1986.
- DANI, C.; CORSINI, I.; BURCHIELLI, S.; CANGIAMILA, V.; ROMAGNOLI, R.; et al. Natural surfactant combined with beclomethasone decreases lung inflammation in the preterm lamb. **Resp**, v. 82, p. 369-376, 2011
- DAY, T. K. Blood gas analysis. **The Veterinary Clinics of North America: small animal practice**, v. 32, p. 1031-1048, 2002.
- DUKES, H. H. **Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.
- EIGENMANN, U. J. E.; SCHOON, H. A.; JAHN, D.; GRUNERT, E. Neonatal respiratory distress syndrome in the calf. **Vet Rec**, v. 11, p. 141-144, 1984.
- FALAH, N.; HAAS, D. M. Antenatal corticosteroid therapy: Current strategies and

identifying mediators and markers for response. **Seminars in Perinatology**, v. 38, n. 8, p. 528–533, 2014. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0146000514001062>>. Acesso em: 9 set. 2014.

FALAH, N.; HAAS, D. M. Antenatal corticosteroid therapy: Current strategies and identifying mediators and markers for response. **Seminars in Perinatology**, v. 38, n. 8, p. 528–533, 2014. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0146000514001062>>.

FEITOSA, F. L. F. Exame físico geral ou de rotina. In: FEITOSA, F. L. F. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008. p. 65-86.

FEITOSA, F. L. F.; PERRI, S. H. V.; BOVINO, F.; MENDES, L. C. N.; PEIRÓ, J. R.; GASPARELLI, E. R. F.; YANAKA, R.; CAMARGO, D. G. Avaliação da vitalidade de bezerros nelores nascidos de partos normais ou distócicos. **Ars Veterinaria**, v. 27, n. 3, p. 01-07, 2011

FLOHÉ, L.; ÖTTING, F. Formation or removal of oxygen radicals. **Meth Enzimol**, v. 105, p. 92-104. 1984

FOWDEN, A. L.; MIJOVIC, J.; SILVERM. The effects of cortisol on hepatic and renal gluconeogenic enzyme activities in the sheep fetus during late gestation. **J Endocrinol**, v. 137, p. 213–222, 1993.

FRIEDMAN, S.; SHINWELL, E. S. Prenatal and postnatal steroid therapy and child neurodevelopment. **Clinic Perinat**, v. 31, n. 3, p. 529–544, 2004.

GIRÃO R.N.; MEDEIROS L.P.; GIRÃO E.S. Mortalidade de cordeiros da raça Santa Inês em um núcleo de melhoramento no estado do Piauí. **Ciência Rural**, v. 28, n. 4, p. 641- 645, 1998.

GRIESE, M. Pulmonary surfactant in health and human lung diseases: state of the art. **Europ Resp J**, v. 13, p.45-76, 1999.

GRUNDY, S. A. Clinically Relevant Physiology of the Neonate. **Vet Clin Small Anim Pract**, v. 36, p. 443–459. 2006

HAGBERG, H.; BONA, E.; GILLAND, E.; PUKA-SUNDEVALL, M. Hypoxia- ischaemia model in the 7 day old rat: possibilities and shortcomings. **Acta Paediatr Suppl**, v.422, p.85–8, 1997

HAGBERG, H.; BONA, E.; GILLAND, E.; PUKA-SUNDEVALL, M. Hypoxia- ischaemia model in the 7 day old rat: possibilities and shortcomings. **Acta Paediatr Suppl**, 422, p. 85–8, 1997.

HALLIDAY HL, EHRENKRANTZ RA, DOYLE LW. Early postnatal (<96 hours) corticosteroids for preventing chronic lung disease in preterm infants. **Cochrane Database Syst Rev**. v. 1. P. 21, 2009.

HALLIDAY, H. L.; EHRENKRANTZ, R. A.; DOYLE, L. W. Moderately early (7-14 days) postnatal corticosteroids for preventing chronic lung disease in preterm infants (Cochrane Review). **Cochrane.Database.Syst.Rev.**, v. 1, p. 23, 2003.

HERMANSEN, C. L.; LORAH, K. N. Respiratory Distress in the Newborn. **American Family Physician**, v. 76, n. 7, p. 987-95, 2007

HUANG WL, BEAZLEY LD, QUINLIVAN JA, EVANS SF, NEWNHAM JP, DUNLOP SA. Effect of corticosteroids on brain growth in fetal sheep. **Obstet Gynaecol**. V. 94, p. 213–18, 1999.

HUGHES, D. Interpretation of lactate- what is it? In: NORTH AMERICAN VETERINARY CONFERENCE, 2013, Washington. 2013. Disponível em: <<http://www.ivis.org.br>>. Acesso em: 15 abril. 2015.

JAINUDENN, M. R.; HAFEZ, E. S. E. Ovinos e caprinos. In: HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. São Paulo: Manole, 2001. p. 335–347.

JOBE, A. H.; MOSS, T. J. M.; NITSOS, I.; IKEGAMI, M.; KALLAPUR, S. G.; NEWNHAM, J. P. Betamethasone for lung maturation: testing dose and formulation in fetal sheep. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 197, n. 5, p. 523 - 526, 2007. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002937807004917>>. Acesso em: 3 de agost. 2015.

JOËLS, M.; BARAM, T. The neuro-symphony of stress. **Neuroscience**, v. 10, p.459-466, 2009.

JONATHAN, R. S. Glucocorticoid programming of the fetus; adult phenotypes and molecular mechanisms. **Molec Cell Endocrinol**. v. 185, p. 61–71, 2001.

KOBAYASHI, T.; NITTA, K.; GANZUKA, M.; INUI, S.; GROSSMANN, G.; ROBERTSON, B. Neonatal respiratory failure. Inactivation of exogenous surfactant by pulmonary edema fluid. **Pediatric Research**, v. 29, v. 4, p. 353-356, 1991.

- KRUSE, J. A.; CARLSON, R. W. Lactate metabolism. **Critic Car Clinic**, v. 5, p. 725-746, 1987
- KUTZLER, M. A.; RUANE, E. K.; COKSAYGAN, T.; VINCENT, S. E.; NATHANIELSZ, P. W. Effects of three courses of maternally administered dexamethasone at 0.7, 0.75, and 0.8 of gestation on prenatal and postnatal growth in sheep, **Pediatrics**, v. 113, p. 313–319, 2004.
- LAMB, C. R.; O'CALLAGHAN, M. W.; PARADIS, M. R. Thoracic radiography in the neonatal foal: a preliminary report. **Vet Radiol**, v. 31, n. 1, p. 11-16, 1990.
- LANDIM-ALVARENGA, F. C.; PRESTES, N. C.; SANTOS, T. C. M. Manejo do neonato. In: PRESTES, N. C.; LANDIM-ALVARENGA, F. C. **Obst Vet**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.158-177, 2006.
- LEVITON, L.C.; GOLDENBERG, R.L.; BAKER, C.S.; SCHWARTZ, R.M.; FREDA, M.C.; FISH, L.J.; CLIVER, S.P.; ROUSE, D.J.; CHAZOTTE, C.; MERKATZ, I.R.; RACZYNSKI, J.M. Methods to encourage the use of antenatal corticosteroid therapy for fetal maturation: a randomized controlled trial. **JAMA**, v. 281, p. 46-52, 1999.
- LIGGINS, G. C.; HOWIE, R. N. A controlled trial of antepartum glucocorticoid treatment for prevention of the respiratory distress syndrome in premature infants. **Pediatrics**, v. 50, p. 515-25, 1972.
- LIGGINS, G. C. Premature delivery of foetal lambs infused with glucocorticoids. **J Endocrinol**, v. 45, p.515-23, 1969.
- LIGGINS, G. C.; HOWIE, R. N. A controlled trial of antepartum glucocorticoid treatment for prevention of the respiratory distress syndrome in premature infants. **Pediatrics**, v. 50, p. 515-25, 1972.
- LIMA, C. C. V.; SILVA, D. F. M.; COSTA, J. N.; COSTA NETO, A. O. Parâmetros fisiológicos de cordeiros mestiços (1/2 e 3/4 Dorper) do nascimento até os 90 dias de idade. **Rev Bra Prod Anim**, v. 11, n. 2, p. 354–361, 2010.
- LOEHLE, M.; SCHWAB, M.; KADNER, S.; MANER, K. M.; GILBERT, J. S.; BRENNAN, J. T.; FORD, S. P.; NATHANIELSZ, P. W.; NIJLAND, M. J. Dose-response effects of betamethasone on maturation of the fetal sheep lung. **Am Jour Obstet Gynec**, v. 202, n. 2, p.1–7, 2010. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2815247&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 10 ago. 2011.
- LOPES, M. D.; PRESTES, N. C.; TAKAHIRA, R. K.; SUDANO, M. J. Concentração de lactato e glicemia em cadelas e neonatos nascidos de cesariana. p. 1442–1448, 2012.

MIYOSHI, M. H.; GUINSBURG, R. Desenvolvimento e Crescimento Pulmonar. **Perinatal**. In: KPELMAN, B.; MIYOSHI, M. H.; GUINSBURG, R. São Paulo: ed. Atheneu, p. 03-14, 1998.

NICHI, M.; GOOVAERTS, I. G.; CORTADA, C. N.; BARNABE, V. H.; DE CLERCQ, J. B.; BOLS, P. E. Roles of lipid peroxidation and cytoplasmic droplets on in vitro fertilization capacity of sperm collected from bovine epididymides stored at 4 and 34 degrees C. **Therio**. v.67, n.2, p. 334- 40, 2007.

NOWAK, R.; POINDRON, P. From birth to colostrum: early steps leading to lamb survival. **Reprod Nutri Develop**, v. 46, p. 431–446, 2006

NOWAK, R.; POINDRON, P. From birth to colostrum: early steps leading to lamb survival. **Reprod Nutri Develop**, v. 46, p. 431–446, 2006

O’Brodivich H, Canessa C, Ueda J. Ex- pression of the epithelial Na⁺ channel in the developing rat lung. **Am J Physiol** 1993;265: C491-6.

O’DONNELL, C. P.; DAVIS, P. G.; MORLEY, C. J. Use of supplementary equipment for resuscitation of newborn infants at tertiary perinatal centers in Australia and New Zeland. **Acta Paediatrica**, v. 94, n. 9, p. 1261-1265, 2005.

OGDEN, B. E.; MURPHY, S. A.; SAUNDERS, G. C.; PATHAK, D.; JOHNSON, J. D. Neonatal lung neutrophils and elastase/proteinase inhibitor imbalance. **Am Rev Respi Dis**, p.130:817, 1984.

PADBURY, J. F.; POLK, D.; ERVIN, M. G.; BERRY, L. M.; IKEGAMY, M.; JOBE, A. H. Postnatal cardiovascular and metabolic responses to a single intramuscular dose of betamethasone in fetal sheep born prematurely by cesarian section. **Pediatric Res**, v.38, p. 709 – 15, 1995.

PARANKA, M. S.; YODER, B. A.; BREHM, W. Improved outcome of extremely premature infants in the 1990. **Military Medicine**, v. 164, p. 568-571, 1999.

PELTONIEMI OM, KARI MA, TAMMELA O, LEHTONEN L, MARTTILA R, HALMESMAKI E, JOUPPILA P, HALLMAN M. Randomized trial of a single repeat dose of prenatal betamethasone treatment in imminent preterm birth. **Pediatrics**, v. 119, n. 2, p.290-298, 2007.

PETERSON, M. E. Distúrbios endócrinos e metabólicos. In: BICHARDS, S. S., SHERDING R. G. **Clínica de Pequenos Animais**. São Paulo:Ed. Roca, 1998

RADES, E.; BITTAR, R. E.; ZUGAIB, M. Determinantes Diretos do Parto Prematuro Eletivo e os Resultados Neonatais. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 26, n.8, p. 655-662, 2004

RIMENSBERGER, P. C. Neonatal respiratory failure. **Curr Opin Pediatric**, v. 14, n. 3, p. 315-321, 2002.

RIVA, MA.; FUMAGALLI, F.; RACAGNI, G. Opposite regulation of basic fibroblast growth factor and nerve growth factor gene expression in rat cortical astrocytes following dexam- ethasone administration. **J Neurochem** v. 64, p.2526–33, 1995.

RODRIGUES, J. A. Assistência clínica maternal e neonatal às diferentes condições obstétricas em bovinos da raça Holandesa. 2008. 94 p. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008

SCHWAB, M.; COKSAYGAN, T.; NATHANIELSZ, P. W. Betamethasone effects on ovine uterine and umbilical placental perfusion at the dose used to enhance fetal lung maturation **Am J Obstet Gynecol**, v. 194, n. 2, p. 572–579, 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000293780501272X>>. Acesso em 17 de set. 2015

SECKL, J. R. Glucocorticoid programming of the fetus; adult phenotypes and molecular mechanisms. **Mol Cell Endocrinol**, v. 185, n. 1-2, p. 61–71, 20 dez. 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11738795>>. Acesso em 15 de julho 2015.

SHANRAKAN, S.; BAUER, C.R.; BAIN. R.; WRITE, L.; ZACHARY, J. Relationship between antenatal steroid administration and grades III and IV intracranial hemorrhage in preterm infants. **Am J Obstet Gynecol** 1995;173:305–12

SHINWELL, E.S.; KARPLUS M, R. E. I. C. H. D.; WEINTRAUB, Z.; BLAZER, S.; BADER, D.; YURMAN, S.; DOLFIN, T.; KOGAN, A.; DOLLBERG, S.; ARBEL, E.; GOLDBERG, M.; GUR, I.; NAOR, N.; SIROTA, L.; MOGILNER, S.; ZARITSKY, A.; BARAK, M.; GOTTFRIED, E. Early postnatal dexamethasone therapy is associated with increased incidence of cerebral palsy. **Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.** v. 83, n. 3, p. 177-81, 2000.

SILVA, L. C. G. Aplicação preventiva do surfactante porcino (Instituto Butantan®) intra-traqueal no desempenho clínico e pulmonar de neonatos ovinos prematuros. 2012. 130 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

SILVA, L. C. G.; LÚCIO, C. F.; VEIGA, G. A. L.; RODRIGUES, J. A.; VANNUCCHI, C. I. Avaliação clínica neonatal por escore Apgar e temperatura corpórea em diferentes condições obstétricas na espécie canina. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v. 103, p. 165–170. 2008.

STEVENSON, C.K.; KIDNEY, B.A.; DUKE, T. et al. Evaluation of accutrend for lactate mensurement in dogs. **Vet. Clin. Pathol.**, v.36, p.261-266, 2007

SYKES, A. R. The shelter requirements of the newborn lamb. Proceedings of the New Zealand Society of **Anim Product**, v. 42, p. 07–11. 1982.

TANSWELL, A. K.; BYRNE, P.J.; HAN, R.N.; EDELSON, J.D.; HAN, V.K. Limited division of low-density adult rat type II pneumocytes in serum-free culture. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**. V. 260, p. 395-402.

VANNUCCHI, C. I.; RODRIGUES, J. A.; SILVA, L. C. G.; LÚCIO, C. F.; VEIGA, G. A. L. A clinical and hemogasometric survey of neonatal lambs. **Small Ruminant Research**. P2. 24, 2012

VENTO, M.; ASENSI, M.; SASTRE, LLORET, A.; GARCIA-SALA, E.; VINA, J. Oxidative stress in asphyxiated term infants resuscitated with 100% oxygen. **J Pediat**, v. 142, n. 3, p. 240-246, 2003

VIDAEFF, a; DOYLE, N.; GILSTRAP III, L. Antenatal corticosteroids for fetal maturation in women at risk for preterm delivery. **Clinics in Perinatology**, v. 30, n. 4, p. 825–840, dez. 2003. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0095510803001027>>. Acesso em: 12 ago. 2011.

VIVAN, M. C. R. Correlação dos níveis de lactato sanguíneo com o estado neurológico e cardiorrespiratório de filhotes de cães nascidos de parto normal ou cesariana sob anestesia geral inalatória. 157 p. **Dissertação (mestrado)**. 2010

VLESSIS, A. A.; MELA-RIKER, L. Perinatal development of heart, kidney and liver mitochondrial antioxidant defense. **Pediatric Research**, v. 26, n. 3, p. 220-226. 1989

WHITELAW, A.; THORESEN, M. Antenatal steroids and the developing brain. **Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition**, v. 83, n. 2, p. F154–7, 2000. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1721137&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em 7 de out. 2015.

WILLET, K.E.; MCMENAMIN, P.; PINKERTON, K.E.; IKEGAMI, M.; JOBE, A.H.; GURRIN, L.; SLY, P.D. Lung morphometry and collagen and elastin content: changes during normal development and after prenatal hormone exposure in sheep. **Pediatr Res**. v. 45, p. 615-25, 1999.

WOOD, C. E.; CHEUNG, C. Y.; BRACE, R. A. Fetal heart rate, arterial pressure, and blood volume responses to cortisol infusion. **Am. J. Physiol.**, v.253, p.R904-9, 1987.

YEH, T. F.; LIN, Y.J.; HUANG, C.C.; CHEN, Y.J.; LIN, C.H.; LIN, H.C.; HSIEH, W.

S.; LIEN, Y. J. Early dexamethasone therapy in preterm infants: a follow-up study. **Pediatrics**, v.5, p. 101, 1998

YEOMANS, E. R.; HAUTH, J. C.; GILSTRAP, L. C.; STRICKLAND, D. M. Umbilical cord pH, PCO₂ and bicarbonate following uncomplicated term vaginal deliveries. **Am J Obst and Gynecol**, v. 151, p. 798–800. 1985.