

**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

MARIANA GONÇALVES GOMES TAVOLONE

**HEMORRAGIA PERI-INTRAVENTRICULAR EM RECÉM-
NASCIDOS PRÉ-TERMO DE MUITO BAIXO PESO AO NASCER:
PERFIL METABOLÔMICO E FATORES DE RISCO**

UBERLÂNDIA – MG

2021

MARIANA GONÇALVES GOMES TAVOLONE

**HEMORRAGIA PERI-INTRAVENTRICULAR EM RECÉM-
NASCIDOS PRÉ-TERMO DE MUITO BAIXO PESO AO NASCER:
PERFIL METABOLÔMICO E FATORES DE RISCO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção de título de Doutor em Ciências da Saúde.

Área de Concentração: Ciências da Saúde

Orientador: Prof. Dr. Robinson Sabino da Silva

Co-orientadoras:

Profa. Dra. Vânia O. Steffen Abdallah

Profa. Dra. Vivian Mara G. de O. Azevedo

Profa. Dra. Daniela M. L. M. Ferreira

UBERLÂNDIA – MG

2021

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

T234 2021	<p>Tavolone, Mariana Gonçalves Gomes, 1975- Hemorragia peri-intraventricular em recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso ao nascer: perfil metabolômico e fatores de risco [recurso eletrônico] / Mariana Gonçalves Gomes Tavolone. - 2021.</p> <p>Orientador: Robinson Sabino da Silva. Coorientadora: Vânia Olivetti Steffen Abdallah. Coorientadora: Vivian Mara Gonçalves de Oliveira Azevedo. Coorientadora: Daniela Marques de Lima Mota Ferreira. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Ciências da Saúde. Modo de acesso: Internet. Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.te.2022.90 Inclui bibliografia. Inclui ilustrações.</p> <p>1. Ciências médicas. I. Silva, Robinson Sabino da, 1981-, (Orient.). II. Abdallah, Vânia Olivetti Steffen, 1954-, (Coorient.). III. Azevedo, Vivian Mara Gonçalves de Oliveira, 1981-, (Coorient.). IV. Ferreira, Daniela Marques de Lima Mota, 1974-, (Coorient.). V. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Ciências da Saúde. VI. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 61</p>
--------------	---

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
 Av. Pará, 1720, Bloco 2H, Sala 11 - Bairro Umarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
 Telefone: (34) 3225-8628 - www.ppcsafamed.ufu.br - ppcsaf@famed.ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Ciências da Saúde				
Defesa de:	Tese de Doutorado Nº 018/PPCSA				
Data:	16.12.2021	Hora de início:	08:00h	Hora de encerramento:	11:40h
Matrícula do Discente:	11713CSD014				
Nome do Discente:	Mariana Gonçalves Gomes Tavalone				
Título do Trabalho:	"Hemorragia peri-intraventricular em recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso ao nascer: perfil metabólico e fatores de risco."				
Área de concentração:	Ciências da Saúde				
Linha de pesquisa:	3: Fisiopatologia das doenças e agravos à saúde				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	DESENVOLVIMENTO DE PLATAFORMAS NANOBIOTECNOLOGICAS DE DIAGNÓSTICO BASEADAS NA INTERAÇÃO ENTRE ANTÍGENOS E AUTO-ANTICORPOS SÉRICOS DE DOENÇAS AUTOIMUNES, NEOPLÁSICAS E INFECCIOSAS				

Reuniu-se em web conferência pela plataforma Teams, em conformidade com a PORTARIA Nº 36, DE 19 DE MARÇO DE 2020 da COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR - CAPES, pela Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, assim composta: Professores Doutores: Marília Martins Prado Bonini (UFU), Douglas Carvalho Caixeta (UFU), Magda Regina Silva Moura (IMEPAC), Patrícia Terra Alves (UNIFESP) e Vivian Mara Gonçalves de Oliveira Azevedo (co-orientadora) em substituição ao Professor Robinson Sabino da Silva (UFU) orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dra. Vivian Mara Gonçalves de Oliveira Azevedo, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Patricia Terra Alves, Usuário Externo**, em 16/12/2021, às 14:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vivian Mara Gonçalves de Oliveira Azevedo, Membro de Comissão**, em 16/12/2021, às 14:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Douglas Carvalho Caixeta, Usuário Externo**, em 16/12/2021, às 14:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **MAGDA REGINA SILVA MOURA, Usuário Externo**, em 16/12/2021, às 16:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marília Martins Prado Bonini, Professor(a) do Magistério Superior**, em 16/12/2021, às 16:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3264394** e o código CRC **CEFCF918**.

“ Tu que habitas sob a proteção do Altíssimo, dize ao Senhor: Sois meu refúgio, meu Deus, em quem eu confio ”. (Salmo 90)

DEDICATÓRIA

Às minhas filhas, **Maria Fernanda e Luísa**, por serem a razão de tudo e por me incentivarem a ser melhor a cada dia. Amo vocês infinitamente.

Ao meu amado **Rogério**, caminhar ao seu lado faz a vida ser muito melhor. Obrigada por compartilhar os sonhos e contribuir para que se tornem realidade.

Aos meus pais, **Gislene e José Maria** (*in memoriam*) por serem o alicerce, o exemplo, a força, a coragem, o amor. Amor eterno.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter dado o dom da vida e pela proteção durante a caminhada.

Às minhas irmãs, **Maria Cristina, Maria de Lourdes e Karoline**, e ao meu irmão **Gustavo**, vocês me completam. À minha cunhada **Juliana** e cunhado **Luciano**. Obrigada pelo amor, companheirismo e dedicação. Amo vocês.

Aos meus sobrinhos, **Laura, João Lucas, Alice (*in memoriam*), Henrique e Gustavo**, alegrias da minha vida.

Aos meus avós **José (*in memoriam*) e Maria (*in memoriam*)** pelo exemplo, amor e dedicação a essa grande família. Saudade eterna.

À minha grande família, amo cada um de vocês. Obrigada por me apoiar e dividir comigo cada conquista. Aos meus queridos amigos pelo carinho, dedicação e companheirismo.

Ao **Prof. Dr. Robinson Sabino da Silva** que de forma tão gentil me recebeu como aluna e guiou nesta fase final da jornada. Muito obrigada pela competência e pelo cuidado.

À **Profa. Dra. Vânia Olivetti Steffen Abdallah**, é um privilégio ter a sua orientação acadêmica e profissional desde a graduação. Será sempre exemplo de dedicação e competência a ser seguido. A você meu carinho e gratidão.

À **Profa. Dra. Vivian Mara Gonçalves de Oliveira Azevedo**, obrigada por me guiar na concretização deste projeto. A sua competência e dedicação foram essenciais. A sua amizade tornou a caminhada mais leve e prazerosa.

À **Profa. Dra. Daniela Marques de Lima Mota Ferreira**, obrigada por ser exemplo e incentivo na busca do aperfeiçoamento acadêmico e profissional. A sua amizade, carinho e afeto foram fundamentais nesta jornada.

À **Profa. Dra. Rochele Rocha Costa**, a sua competência e simpatia em me orientar e auxiliar na análise dos dados foram essenciais no aprendizado e manejo dos mesmos. Obrigada.

Aos meus queridos colegas e amigos do Serviço de Neonatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, obrigada pelo apoio e companheirismo.

A toda equipe do Laboratório de Nanobiotecnologia pelo auxílio na execução do estudo.

Ao grupo de pesquisa vinculado a este projeto, obrigada por dividir as incertezas e o aprendizado almejando sempre o aperfeiçoamento e a qualidade da pesquisa científica.

À Universidade Federal de Uberlândia e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, obrigada pelos ensinamentos e orientações.

Às minhas amigas, **Gisele e Viviane**, secretárias do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, muito obrigada por tudo, sempre.

Aos membros da banca de qualificação e da banca examinadora da tese, por terem gentilmente aceitado participar da avaliação deste estudo, e pelas valiosas sugestões.

Às agências brasileiras de financiamento, CNPq, CAPES e FAPEMIG, por fornecer apoio financeiro ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia e Nanobiotecnologia.

HOMENAGEM ESPECIAL

Ao Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho,

A saudade eterniza a presença de quem se foi ...

Que os seus ensinamentos e exemplo sejam fontes de inspiração para todos os que tiveram o privilégio de compartilhar a vida com este verdadeiro mestre.

RESUMO

Introdução: A hemorragia peri-intraventricular (HPIV) é uma morbidade frequente no período neonatal, principalmente, nos recém-nascidos pré-termo (RNPT) e pode acarretar, a longo prazo, déficits motores e cognitivos em graus variados dependendo da gravidade do dano cerebral. A fisiopatologia multifatorial da HPIV é motivo de discussão na literatura e a análise metabólica tem sido proposta como forma de colaborar na sua elucidação.

Objetivo: avaliar o perfil metabólico sanguíneo dos recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso ao nascer e identificar os metabólitos associados com a presença de hemorragia peri-intraventricular aos dois dias de vida; identificar os fatores de risco associados à ocorrência de hemorragia peri-intraventricular entre o 2º e o 7º dias de vida.

Método: Trata-se de um estudo transversal, em que foram incluídos os recém-nascidos (RN) de muito baixo peso ao nascer e com idade gestacional abaixo de 34 semanas, nascidos no período de junho de 2017 a agosto de 2019. Foram excluídos os RNPT com malformações congênitas, síndromes genéticas, cromossomopatias, gemelares, que evoluíram para o óbito nas primeiras 48 horas de vida, que não realizaram exame de ultrassonografia no 2º dia de vida e aqueles que não tiveram coleta de amostras de sangue no 2º dia de vida. O diagnóstico da hemorragia peri-intraventricular foi realizado através da ultrassonografia transfontanelar entre 48 e 72h de vida e repetida com 7 dias de vida. Foi adotada a classificação de Papile no diagnóstico e classificação da HPIV. Os dados clínicos e demográficos foram obtidos dos prontuários maternos e dos recém-nascidos. Para a análise metabólica global, foram coletadas amostras de sangue no segundo dia de vida do RN. As análises estatísticas foram realizadas com os valores transformados \log_2 . Foram aplicados o teste t, teste de Mann Whitney, teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher. Foi realizada a análise multivariada utilizando a regressão logística binária. Considerou-se como significância estatística $p < 0,05$.

Resultados: Durante o período do estudo, nasceram 253 recém-nascidos elegíveis. Na análise do perfil metabólico, foram incluídos 129 recém-nascidos pré-termo, sendo que 33 (25,5%) apresentaram HPIV ao 2º dia de vida. Os RNPT com HPIV foram reanimados em sala de parto com maior frequência (81,8% vs 62,5%; $p=0,041$), apresentaram menor idade gestacional ao nascer (27,1 vs 28,5 semanas; $p=0,003$) e maior pontuação no SNAP-PE II (37 vs 25; $p=0,017$). Além disso, receberam ventilação mecânica com maior

frequência (69,7% vs 36,5%; $p=0,003$) e por maior tempo (48h vs 20h; $p<0,001$), apresentaram maiores taxas de uso de surfactante exógeno (94% vs 66,6%; $p=0,002$), sepse precoce (15,2% vs 2,1%; $p=0,04$) e óbito (33% vs 15,6%; $p=0,029$). Com relação à análise metabólica, foi observado maior expressão de monoacilglicerol (OR = 0,942, IC 95% = 0,897; 0,990) e de 10Z,13Z-ácido nonadecadienoico (OR = 0,868, IC 95% = 0,795; 0,947) nos RNPT sem HPIV. A concentração de β -isorenieratene foi maior naqueles RNPT com HPIV (OR = 1,065, IC 95% = 1,003; 1,130). Além disso, estes RNPT receberam drogas vasoativas em uma frequência maior (OR = 6,585, IC 95% = 2,008; 21,591).

Para a avaliação dos fatores associados a HPIV entre 2 e 7 dias de vida foram incluídos 99 RNPT com ultrassonografia normal aos dois dias de vida e destes, 17 (17,17%) tiveram HPIV com 7 dias, sendo 5 (29,4%) grau I, 9 (52,9%) grau II e 3 (17,6%) grau III. A idade gestacional ($p=0,002$) e peso de nascimento ($p=0,009$) foram menores entre os RNPT com HPIV. Os RNPT com HPIV apresentaram incidência maior de pneumotórax ($p<0,001$), persistência do canal arterial ($p=0,003$), sepse ($p<0,001$), necessidade de aminas vasoativas ($p=0,018$), hemotransfusão ($p=0,002$), ventilação mecânica invasiva ($p=0,002$) e óbito ($p=0,03$). No modelo de regressão logística binária, a sepse apresentou relação com maior ocorrência de HPIV (OR=4,081, IC 95%= 1,034 - 16,116, valor- $p=0,045$).

Conclusão: A análise metabólica do sangue dos RNPT mostrou diferença na concentração sanguínea de três substâncias nos RNPT com HPIV quando comparados com os sem HPIV, sugerindo a necessidade de mais estudos para auxiliar na identificação de vias metabólicas importantes para o entendimento da fisiopatologia da HPIV e para o desenvolvimento de novas estratégias de prevenção e tratamento desta patologia. Além disso, este estudo confirmou a etiologia multifatorial da HPIV e identificou a sepse como principal fator de risco relacionado reforçando que o conhecimento destes fatores é particularmente importante na definição das estratégias de cuidado do RNPT afim de reduzir a incidência da HPIV.

Palavras-chave: metabólica; hemorragia cerebral intraventricular; recém-nascido prematuro; fatores de risco.

ABSTRACT

Introduction: Intraventricular hemorrhage (IVH) is a frequent morbidity in the neonatal period, especially in preterm infants and may cause, in a long term, motor impairment and/or neurodevelopmental delay in several degrees depending on the severity of brain damage. The multifactorial pathophysiology of IVH is a matter of discussion in the literature and metabolomics analysis has been proposed as a way to collaborate in its elucidation.

Objective: to evaluate the blood metabolomic profile of preterm infants with very low birth weight and identify the metabolites associated with the presence of intraventricular hemorrhage at two days of life; identify the risk factors associated with the occurrence of intraventricular hemorrhage between 2 and 7 days of life.

Method: This is a cross-sectional study, in which newborns with very low birth weight and with a gestational age below 34 weeks, born between June 2017 and August 2019, were included. It was not included neonates with congenital malformations, genetic syndromes, chromosomopathies, twins, those who progressed to death in the first 48 hours of life, who did not undergo ultrasound examination on the 2nd day of life and those who did not have blood samples collected on the 2nd day of life. The diagnosis of intraventricular hemorrhage was performed using transfontanellar ultrasound between 48 and 72 hours of life and repeated at 7 days of life. The classification of Papille was adopted in the diagnosis and classification of IVH. Clinical and demographic data were obtained from maternal and infants medical records. For the global metabolomic analysis, blood samples were collected on the second day of life of the newborn. Statistical analyzes were performed with log₂ transformed values. The t test, Mann Whitney test, chi-square test or Fisher's exact test were applied. Multivariate analysis was performed using binary logistic regression. It was considered as statistical significance $p < 0.05$.

Results: During the study, 253 eligible infants were born.

In the analysis of the metabolomic profile, 129 preterm infants were included, and 33 (25.5%) presented IVH at two days of life. The neonates with IVH were more frequently resuscitated in the delivery room (81.8% vs 62.5%; $p=0.041$), presented lower gestational age at birth (27.1 vs 28.5 weeks; $p=0.003$) and higher SNAP-PE II score (37 vs 25; $p=0.017$). In addition, received mechanical ventilation with more often (69.7% vs 36.5%; $p=0.003$) and with longer invasive mechanical ventilation time (48h vs 20h $p < 0.001$),

higher rates of exogenous surfactant use (94% vs 66.6%; $p=0.002$), early sepsis (15.2% vs 2.1%; $p=0.04$) and death (33% vs 15.6%; $p=0.029$). Concerning the metabolomic analysis, a higher expression of monoacylglycerol (OR = 0.942, 95% CI = 0.897; 0.990) and of 10Z, 13Z-nonadecadienoic acid (OR = 0.868, 95% CI = 0.795; 0.947) in preterm infants without IVH was observed. The concentration of β -isorenieratene was higher in those preterm infants with IVH (OR = 1.065, 95% CI = 1.003; 1.130). In addition, these preterm neonates received vasoactive drugs at a higher frequency (OR = 6.585, 95% CI = 2.008; 21.591).

For the evaluation of factors associated with IVH between 2 and 7 days of life, 99 neonates with normal ultrasound at two days of life were included, and 17 (17.17%) of these had IVH at 7 days, 5 (29.4%) grade I, 9 (52.9%) grade II and 3 (17.6%) grade III. Gestational age ($p=0.002$) and birth weight ($p=0.009$) were lower among neonates with IVH. Neonates with IVH had a higher incidence of pneumothorax ($p<0.001$), patent ductus arteriosus ($p=0.003$), sepsis ($p<0.001$), need for vasoactive amines ($p=0.018$), blood transfusion ($p=0.002$), invasive mechanical ventilation ($p=0.002$) and death ($p=0.03$). In the binary logistic regression model, sepsis was associated with a higher occurrence of IVH (OR=4.081, 95% CI= 1.034 - 16.116, p -value = 0.045).

Conclusion: The metabolomics analysis of the blood of preterm infants showed a difference in the blood concentration of three substances in neonates with IHV when compared to those without IHV, suggesting the needs for further studies to assist in the identification of important metabolomic pathways for the understanding of the pathophysiology of IHV and for the development of new strategies for prevention and treatment of this pathology. Moreover, this study confirmed the multifactorial etiology of IHV and identified sepsis as the main related risk factor, reinforcing that the knowledge of these factors is particularly important in the definition of strategies for the care of neonates in order to reduce the incidence of IHV.

Key words: metabolomics; intraventricular cerebral hemorrhage, infant premature, preterm; risk factors.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Figura 1 - Imagem de ultrassonografia cerebral normal mostrando corte no plano coronal e plano sagital mediano	25
Figura 2 - Imagem de ultrassonografia cerebral de RNPT com HPIV grau I de Papile <i>et al.</i> (1978)	25
Figura 3 - Imagem de ultrassonografia cerebral de RNPT com HPIV grau II de Papile <i>et al.</i> (1978)	26
Figura 4 - Imagem de ultrassonografia cerebral de RNPT com HPIV grau III e grau IV de Papile <i>et al.</i> (1978)	26

ARTIGO 1

Figura 1. Fluxograma dos recém-nascidos incluídos no estudo	41
Figura 2. Intensidade da β -isorenieratene no sangue de dois dias dos RNPT incluídos no estudo	43
Figura 3. Intensidade da monoacilglicerol no sangue de dois dias dos RNPT incluídos no estudo	44
Figura 4. Intensidade do ácido nonadecadienoico no sangue de dois dias dos RNPT incluídos no estudo	44

ARTIGO 2

Figura 1. Fluxograma dos recém-nascidos junho 2017 a agosto 2019	59
--	----

LISTA DE TABELAS

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Tabela 1.	Principais artigos publicados com análise metabólica em neonatologia	31
-----------	--	----

ARTIGO 1

Tabela 1.	Características maternas e neonatais.....	42
Tabela 2.	Morbidades e procedimentos realizados nos RNPT incluídos no estudo	43
Tabela 3.	Modelo de regressão logística para os preditores de HPIV nos RNPT incluídos no estudo	45

ARTIGO 2

Tabela 1.	Características maternas e neonatais	59
Tabela 2.	Morbidades e procedimentos realizados nos RNPT incluídos no estudo	60
Tabela 3.	Modelo de regressão logística para os preditores de HPIV nos RNPT incluídos no estudo	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDP	- Broncodisplasia pulmonar
HC-UFU	- Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia
HPIV	- Hemorragia peri-intraventricular
IG	- Idade gestacional
IRA	- Injúria renal aguda
MBPN	- Muito baixo peso ao nascer
PCA	- Persistência do Canal Arterial
RCIU	- Restrição de Crescimento Intrauterino
RN	- Recém-nascido
RNPT	- Recém-nascido pré-termo
SDR	- Síndrome do Desconforto Respiratório
SNAP-PE	- <i>Score for Neonatal Acute Physiology – Perinatal Extension</i>
TPP	- Trabalho de parto prematuro

SUMÁRIO

	Pág
1. INTRODUÇÃO	15
1.1 Considerações iniciais	16
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
2.1 Nascimento prematuro e suas consequências	18
2.2 Fisiopatologia da hemorragia peri-intraventricular	19
2.3 Fatores de risco para hemorragia peri-intraventricular	22
2.4 Apresentação clínica e diagnóstico	24
2.5 Evolução	27
2.6 Análise metabólica	28
3. OBJETIVOS	33
4. ARTIGO 1	34
Título: Análise metabólica do sangue de recém-nascido pré-termo de muito baixo peso ao nascer com hemorragia peri-intraventricular	
5. ARTIGO 2	55
Título: Fatores de risco para hemorragia peri-intraventricular em recém-nascido pré-termo menores de 34 semanas entre 2 e 7 dias de vida	
6. CONCLUSÃO	67
7. PERSPECTIVAS FUTURAS	68
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
9. APÊNDICES	75
10. ANEXOS	80

1. INTRODUÇÃO

Com os avanços da medicina perinatal e neonatal, observa-se um aumento na sobrevivência de recém-nascidos cada vez mais prematuros (STOLL *et al.*, 2015; VICTORA *et al.*, 2020), mas a presença de morbidades neonatais e suas sequelas ainda é um desafio na assistência a estes recém-nascidos (RN). A hemorragia periventricular (HPIV) é uma morbidade frequente no período neonatal principalmente nos recém-nascidos pré-termo (RNPT) (TORTORA *et al.*, 2018) e pode acarretar, a longo prazo, déficits motores e cognitivos em graus variados dependendo da gravidade do dano cerebral (ADAMS-CHAPMAN *et al.*, 2008; PATRA *et al.*, 2006).

Os fatores de risco para a ocorrência de HPIV estão descritos na literatura e, dentre eles, a idade gestacional configura como causa principal desta patologia. São descritos ainda fatores relacionados a gestação como Doença Hipertensiva Específica da Gestação, corioamnionite e uso de corticoide antenatal, e ao parto como tipo de parto e necessidade de manobras de reanimação na sala de parto. Em relação às patologias que ocorrem no período neonatal, a síndrome do desconforto respiratório (SDR), a sepse neonatal, a persistência do canal arterial, a instabilidade hemodinâmica e o pneumotórax configuram como fatores relacionados a HPIV (PORYO *et al.*, 2018).

A maioria dos episódios de HPIV ocorre nas primeiras 48-72h de vida sendo 50% deles nas primeiras 24h e são influenciados, principalmente, pelos fatores de risco relacionados à gestação e ao parto (AL-ABDI; AL-AAMRI, 2014). Observa-se que um número expressivo de RN apresenta HPIV após este período, mas poucos estudos avaliam separadamente os fatores de risco para a HPIV após 48h de vida (OSBORN; EVANS; KLUCKOW, 2003). A identificação destes fatores pode elucidar mecanismos fisiopatológicos diversos e possibilitar o desenvolvimento de práticas clínicas para assistência destes RN.

O conhecimento dos mecanismos fisiopatológicos e das respostas dos sistemas biológicos a estímulos endógenos e exógenos através da análise metabólica de diversos fluidos corporais traz a possibilidade de definir biomarcadores das diversas patologias bem como o desenvolver estratégias terapêuticas e de prevenção das mesmas (TZOULAKI *et al.*, 2014).

Esta é uma ciência ômica, que tem despertado interesse da comunidade científica nas últimas décadas e tem sido aplicada no estudo de doenças no período neonatal como

restrição do crescimento, asfixia perinatal, injúria renal aguda, entre outras (IACOVIDOU *et al.*, 2014). Em relação a HPIV, os estudos com análise metabolômica são escassos. Como esta patologia tem etiologia multifatorial, a identificação dos metabólitos e o conhecimento das vias metabólicas pode ter papel importante na compreensão e manejo da mesma.

O Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU) é uma unidade hospitalar conveniada ao Sistema Único de Saúde, de alta complexidade e é referência para os municípios da macro e microrregião do Triângulo Mineiro.

O Serviço de Neonatologia do HC-UFU é constituído por Unidade de Terapia Intensiva Neonatal com 20 leitos, Unidade de Cuidados Intermediários Convencionais com 16 leitos, Unidade de Cuidados Intermediários Canguru com 6 leitos e Alojamento Conjunto com 18 leitos. É uma unidade de referência para assistência a recém-nascidos com patologias de alta complexidade, dentre elas a prematuridade e HPIV, destacadas como problemas de saúde pública pela alta taxa de morbimortalidade. Oferece ainda assistência multiprofissional aos RNPT de acordo com a medicina baseada em evidências e através da elaboração de protocolos clínicos.

O Laboratório de Nanobiotecnologia (Nanos) do Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia, integra o Instituto Nacional de Nanobiotecnologia e é referência no desenvolvimento de pesquisas nas múltiplas áreas do conhecimento, principalmente as relacionadas ao diagnóstico e desenvolvimento de estratégias terapêuticas para diversas patologias e tem se destacado no estudo da metabolômica.

Com este estudo, esperou-se identificar, através da análise metabolômica do sangue de RNPT, metabólitos que pudessem auxiliar no conhecimento das vias metabólicas envolvidas na fisiopatologia da HPIV, com o objetivo de identificar biomarcadores que poderiam auxiliar no entendimento da evolução, nas possibilidades terapêuticas e na prevenção desta patologia. Esperou-se ainda identificar os principais fatores de risco relacionados a HPIV nas primeiras 48h de vida bem como, após esta idade.

1.1 Considerações iniciais

A formatação desta tese segue o modelo alternativo proposto pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Uberlândia, cuja orientação sustenta que os resultados dos estudos sejam apresentados em formato de artigos científicos. Primeiramente, será apresentada a fundamentação teórica, como forma

de revisão da literatura dos temas apresentados na tese, seguida dos objetivos que nortearam a realização deste estudo. Os resultados serão demonstrados em dois manuscritos, a conclusão expressará a síntese dos principais resultados do estudo e, a seguir, nas perspectivas, serão elencadas as expectativas para estudos futuros. Posteriormente, serão demonstradas as referências bibliográficas, os apêndices e os anexos.

O primeiro manuscrito intitulado “**Perfil metabólico sanguíneo de recém-nascidos pré-termo com hemorragia peri-intraventricular**” teve como objetivo avaliar o perfil metabólico sanguíneo dos recém-nascidos pré-termo com hemorragia peri-intraventricular aos dois dias de vida. Este artigo será submetido para publicação na revista “*Clinical Chemistry*” (fator de impacto 8.327).

O segundo manuscrito intitulado “**Fatores de risco para hemorragia peri-intraventricular em recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso ao nascer após 48h de vida**” teve como objetivo a identificação dos fatores de risco associados a ocorrência da HPIV entre 2 e 7 dias de vida. Este artigo será submetido para publicação na revista “*The Journal of Pediatrics*” (fator de impacto 4.406).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Nascimento prematuro e suas consequências

A prematuridade é a principal causa de morbidade e mortalidade no período neonatal e em decorrência do desenvolvimento de tecnologias e estudos de melhores práticas assistenciais, observa-se, nas últimas décadas, a sobrevivência de recém-nascidos cada vez mais imaturos. Além da idade gestacional, o peso de nascimento também é fator importante na ocorrência de morbidades e na mortalidade nesse período (ANCEL *et al.*, 2015).

O RN é definido como pré-termo quando o nascimento ocorre antes de 37 semanas de idade gestacional (IG); termo, quando ocorre entre 37 e 42 semanas; e pós-termo, quando ocorre após as 42 semanas de idade gestacional. O nascimento prematuro ainda pode ser subdividido em prematuros extremos (< 28 semanas), muito prematuros (entre 28-31 semanas) e moderados (32-36 semanas de gestação) (BLENCOWE *et al.*, 2013). Em relação ao peso de nascimento, os recém-nascidos são classificados como baixo peso ao nascer (PN) ($PN \leq 2.500g$), muito baixo peso ao nascer ($PN \leq 1.500g$) e extremo baixo peso ao nascer ($PN \leq 1.000g$). O período neonatal compreende o período entre o nascimento e 28 dias de vida (WHO, 2012).

Estima-se que, a cada ano, nascem cerca de 135 milhões de crianças no mundo e 11% destas sejam prematuras (HARRISON; GOLDENBERG, 2016). Em 2019, houve aproximadamente 2.850.000 nascimentos no Brasil dos quais 11% foram prematuros e destes, 13% eram menores de 32 semanas de idade gestacional. Dentre os nascidos vivos, 35.293 foram a óbito no primeiro ano de vida sendo que em 52,4% o óbito foi com menos de 7 dias de vida e destes 8,3% estavam relacionados à prematuridade extrema (BRASIL, 2021).

Em 2016, as três principais causas mundiais de óbito em crianças menores de 5 anos foram infecções de vias respiratórias inferiores, complicações da prematuridade, encefalopatia neonatal secundária a asfixia e trauma no parto (GBD, 2017).

Stoll *et al.* (2015) acompanharam a mortalidade e morbidades apresentadas por crianças nascidas prematuramente em 26 centros de neonatologia dos Estados Unidos entre os anos de 1993 e 2012. As taxas de sobrevivência mantiveram-se inalteradas entre 1993 e 2008. Após 2008, as tendências de sobrevida variaram de acordo com a idade gestacional. De 2009 a 2012, a sobrevida aumentou para as crianças nascidas em 23

semanas (27% a 33%) e 24 semanas (63 a 65%), com menores aumentos relativos para crianças nascidas com 25 semanas (79% a 81%) e 27 semanas (90% a 94%). Victora *et al.* (2020) ao estudarem a mortalidade e os fatores de risco associados aos nascimentos de pré-termos de muito baixo peso ao nascer (MBPN), ao longo de 33 anos, em uma cidade no sul do Brasil, evidenciaram uma queda na mortalidade de neonatos com peso < 1.500g de 688 para 259 por mil ($p < 0,001$).

Apesar da progressiva melhora na sobrevida dos prematuros, a ocorrência de morbidades decorrentes da prematuridade tem se mantido estável principalmente nas crianças nascidas com menores idades gestacionais. As morbidades mais prevalentes no período neonatal são a enterocolite necrosante, a hemorragia peri-intraventricular, a leucomalácia periventricular, a retinopatia da prematuridade e a displasia broncopulmonar (HORBAR *et al.*, 2012; RICHTER *et al.*, 2019; STOLL *et al.*, 2015). Essas patologias são associadas às sequelas neuropsicomotoras como paralisia cerebral, déficits cognitivos, perda auditiva e déficit visual (HORBAR *et al.*, 2012; STOLL *et al.*, 2015), que podem resultar em graus variados de limitações de várias funções ao longo da vida do indivíduo. Em um estudo multicêntrico da Rede Vermont Oxford, a leucomalácia periventricular e a hemorragia peri-intraventricular foram as principais condições associadas às sequelas neurológicas graves (MERCIER *et al.*, 2010).

A hemorragia peri-intraventricular é uma das manifestações de lesão cerebral mais comumente encontradas no período neonatal, principalmente, entre os RNPT. A ocorrência da HPIV é inversamente proporcional à idade gestacional e ao peso de nascimento (VOLPE, 2008).

2.2 Fisiopatologia da hemorragia peri-intraventricular

A lesão básica da HPIV é o sangramento na matriz germinativa subependimária, área localizada entre o núcleo caudado e o tálamo e, na sua evolução, pode atingir os ventrículos laterais. Essa região serve como fonte de precursores neuronais entre 10 e 20 semanas de idade gestacional e, no terceiro trimestre de gestação, fornece precursores gliais que se transformam em astrócitos e oligodendrócitos. Em torno de 28 a 32 semanas de gestação, a matriz germinativa é mais proeminente no núcleo talamoestriado, ao lado do forame interventricular, correspondendo ao local mais comum da hemorragia. A matriz germinativa reduz seu tamanho progressivamente com o aumento da idade

gestacional, principalmente a partir de 32 semanas, quase desaparecendo após 36-37 semanas de gestação (BALLABH, 2010; VOLPE, 2008).

A matriz germinativa é composta por células precursoras gliais e de neurônios em diferentes estágios de proliferação e maturação celular o que indica um metabolismo alto com alta demanda de oferta de oxigênio. Esta demanda elevada de oxigênio determina uma situação de hipoxia relativa com estímulo de produção de substâncias angiogênicas levando a uma rápida proliferação de vasos com características peculiares de imaturidade que os tornam frágeis e suscetíveis a hemorragias (BALLABH, 2014). Estas características estão relacionadas com a redução dos pericitos da matriz germinativa, alterações estruturais dos astrócitos e lâmina basal pobre em fibronectina (BALLABH, 2010).

Os pericitos são células perivasculares localizadas próximo a lâmina basal que envolvem as células endoteliais e têm papel crucial na estimulação e regulação da angiogênese através da síntese de matriz extracelular e maturação do endotélio vascular. Braun *et al.* (2007), encontraram uma densidade menor de pericitos nos vasos da matriz germinativa quando comparados com o córtex cerebral e substância branca em fetos humanos, RNPT e filhotes de coelhos prematuros, mesmo após inibição da angiogênese. Além disso, foi demonstrado, utilizando camundongos adultos, que a deficiência de pericitos aumenta a permeabilidade da barreira hematoencefálica a água e alguns marcadores específicos (ARMULIK *et al.*, 2010).

A lâmina basal é um componente chave da barreira hematoencefálica e é composta por várias substâncias, dentre elas a fibronectina. Esta por sua vez, promove a organização do citoesqueleto celular e estabilização da matriz extracelular com consequente estabilização e força mecânica aos tecidos (PERSIDSKY *et al.*, 2006). Szpecht *et al.* (2020), ao avaliarem a presença de polimorfismo do gene responsável pela síntese de fibronectina e sua relação com a presença de HPIV em RNPT, encontraram um aumento de sete vezes na suscetibilidade a HPIV graus II a IV em RN com o polimorfismo deste gene e genótipo TT FN1 rs10202709 (OR 7237 (1046–79,59; p=0,044)).

Os níveis de fibronectina são significativamente menores na vasculatura da matriz germinativa quando comparados com a substância branca e o córtex cerebral, o que pode justificar a fragilidade dos vasos sanguíneos desta região. Como a fibronectina fornece estabilidade estrutural aos vasos sanguíneos, sua expressão reduzida na matriz germinativa pode contribuir para a fragilidade da vasculatura da matriz germinativa e a propensão à hemorragia em neonatos prematuros (XU *et al.*, 2008).

Por fim, os astrócitos são células que envolvem os vasos sanguíneos e fornecem integridade estrutural e controle da permeabilidade da barreira hematoencefálica. A presença de alterações estruturais dos podócitos destas células presentes na matriz germinativa quando comparadas com outras regiões cerebrais contribuem para a fragilidade dos mesmos (EL-KHOURY *et al.*, 2006).

É importante salientar que a HPIV ocorre mais frequentemente nos primeiros três dias de vida o que pode ser explicado pelo aumento da concentração de oxigênio no sangue e tecidos após 48-72h de vida, suprimindo os mediadores que estimulam a angiogênese acelerada e a consequente formação de vasos menos imaturos e mais resistentes ao sangramento (BALLABH, 2014; VOLPE, 2008).

Além da fragilidade dos vasos sanguíneos da matriz germinativa, a flutuação do fluxo sanguíneo cerebral dos RNPT, as alterações da coagulação sanguínea e a plaquetopenia têm papel fundamental na patogênese da HPIV (BALLABH, 2014).

A autorregulação cerebral é a capacidade dos vasos sanguíneos cerebrais de manter o fluxo sanguíneo relativamente constante apesar das flutuações na pressão sanguínea. As deficiências na autorregulação cerebral aumentam o risco de lesão cerebral e estão associadas a menor idade gestacional e peso ao nascer, além de serem observados em RNPT em ventilação mecânica e instáveis hemodinamicamente (BALLABH, 2014; MANNAN *et al.*, 2018; PETER; GANDY; HOFFMAN, 2017). A função autorregulatória do fluxo sanguíneo cerebral melhora progressivamente entre 23 e 33 semanas de gestação, com melhor resposta (ou maior impacto) na autorregulação da velocidade do fluxo sanguíneo cerebral na sístole, demonstrando a dependência que o fluxo sanguíneo cerebral tem em relação ao ciclo cardíaco nos RNPT (RHEE *et al.*, 2014; 2018). Além disso, o aumento da pressão venosa central secundária ao aumento das pressões intratorácicas com redução do retorno venoso na veia cava superior, que ocorre nos RNPT com pneumotórax ou naqueles ventilados com altas pressões médias de vias aéreas, pode levar a alteração da permeabilidade da barreira hematoencefálica e resultar em lesão da vasculatura com consequente hemorragia (BALLABH, 2014; VOLPE, 2008).

Nota-se então que a patogênese da HPIV é multifatorial e diversos fatores de risco são atribuídos ao desenvolvimento desta patologia, principalmente por alterar o fluxo sanguíneo cerebral, predispondo a ocorrência de sangramento em vasos estruturalmente frágeis. Além disso, a trombocitopenia pode contribuir para a HPIV por causar distúrbios de coagulação em RN filhos de mães com doença hipertensiva específica da gestação ou naqueles com sepse (ULUSOY *et al.*, 2013). Duppré *et al.* (2015) encontraram uma maior

incidência de HPIV nos RNPT que apresentavam distúrbios de coagulação nas primeiras 24h de vida.

2.3. Fatores de risco para hemorragia peri-intraventricular

Vários fatores de risco estão relacionados com a ocorrência da HPIV. Dentre os fatores pré-natais destacam-se o não uso de corticoide antenatal, fertilização *in vitro* (PARODI *et al.*, 2020), parto cesárea sem trabalho de parto (PORYO *et al.*, 2018) e a corioamnionite materna (VENKATESH *et al.*, 2019; VILLAMOR-MARTINEZ *et al.*, 2018). A menor idade gestacional e menor peso de nascimento são associados a um maior risco de HPIV (STOLL *et al.*, 2010). Além disso, a SDR, pneumotórax, uso de aminas vasoativas (dobutamina, dopamina e noradrenalina), persistência do canal arterial, sepsse precoce, escores de Apgar no primeiro e quinto minutos e ventilação mecânica apresentam relação com a ocorrência da HPIV (PARODI *et al.*, 2020; PORYO *et al.*, 2018).

O uso antenatal de corticoide com objetivo de induzir a maturação pulmonar também reduz a incidência e gravidade da HPIV (ROBERTS *et al.*, 2017). Os corticoides administrados nas gestantes em risco de parto prematuro promovem a estabilização da microvasculatura da matriz germinativa (XU *et al.*, 2008), o que reduz o risco de ruptura e sangramento destes vasos, além de reduzir a incidência e gravidade da SDR, o que pode reduzir as flutuações do fluxo sanguíneo cerebral com consequente redução no risco de HPIV (BALLABH, 2014; VINUKONDA *et al.*, 2010). Estudos mostram um aumento na porcentagem de administração de corticoide antenatal o que resulta em efeito protetor em relação a incidência e gravidade da HPIV (D'APREMONT *et al.*, 2020; PORYO *et al.*, 2018; RAZAZ *et al.*, 2015; STOLL *et al.*, 2015).

A presença de corioamnionite materna tem-se mostrado controversa na literatura como fator de risco para HPIV, provavelmente devido aos diferentes critérios diagnósticos desta patologia materna (PORYO *et al.*, 2018; VENKATESH *et al.*, 2019; VILLAMOR-MARTINEZ *et al.*, 2018).

Papiernik *et al.* (2010) avaliaram a presença de HPIV em gestações gemelares, compararam com gestações únicas de RNPT entre 24 e 27 semanas de idade gestacional e demonstraram uma maior ocorrência de HPIV entre os gemelares. Além disso, estudos demonstram que a via de parto pode contribuir para a ocorrência de HPIV, sendo parto vaginal um possível fator de risco para sua ocorrência (HUMBERG *et al.*, 2017; PORYO *et al.*, 2018; SIDDAPPA *et al.*, 2021). Poryo *et al.* (2018) também discutiram a

possibilidade das alterações hemodinâmicas do feto, durante o trabalho de parto, contribuírem para a ocorrência da HPIV.

Diversos fatores que alteram direta ou indiretamente o fluxo sanguíneo cerebral ou a fragilidade dos vasos da matriz germinativa estão relacionados com a ocorrência de HPIV. A idade gestacional é um dos fatores mais importantes associados à HPIV pois quanto mais prematuro é o RN maior é a matriz germinativa, mais imaturos e frágeis são os seus vasos e mais deficiente é a autorregulação cerebral (BALLABH, 2010; 2014). Além disso, quanto menor a idade gestacional maior é a incidência de morbidades neonatais que estão associadas a HPIV como a SDR, pneumotórax, persistência do canal arterial e sepse precoce (ANCEL *et al.*, 2015; STOLL *et al.*, 2015).

A necessidade de reanimação na sala de parto está diretamente ligada às condições de nascimento do RN, sendo também mais frequente naqueles com menores idades gestacionais. Está indicada quando os RN apresentam apneia ou bradicardia e consiste em ventilação com pressão positiva, intubação orotraqueal, massagem cardíaca e uso de adrenalina, procedimentos que, na maioria das vezes, estão associados a hipoxemia e alteração do fluxo sanguíneo cerebral resultando em maior risco de HPIV (ARNON *et al.*, 2017).

A SDR é uma das patologias mais frequentes entre os RNPT (STOLL *et al.*, 2010) e está associada a HPIV (HELWICH *et al.*, 2017; MANNAN *et al.*, 2018). Nessa condição pode haver necessidade de ventilação mecânica ou pode ocorrer como complicação de um pneumotórax que determinam aumento da pressão intratorácica, dificultam o retorno venoso e reduzem o débito cardíaco resultando em flutuações do fluxo sanguíneo cerebral e aumento da pressão venosa cerebral com conseqüente aumento do risco de HPIV (ALY *et al.*, 2012; SU *et al.*, 2016).

A sepse neonatal precoce, que ocorre antes de 48h de vida, acarreta alterações inflamatórias na barreira hematoencefálica que alteram a sua permeabilidade, além de instabilidade hemodinâmica e maior necessidade de suporte ventilatório nos RNPT que podem justificar a maior prevalência desta patologia entre os RN com HPIV (BALLABH, 2014; PORYO *et al.*, 2018).

A instabilidade hemodinâmica, que acompanha as várias patologias presentes no período neonatal, pode resultar em alteração do fluxo sanguíneo cerebral com maior risco de ocorrência de HPIV. Khanafer-Larocque *et al.* (2019) observaram que a presença de persistência do canal arterial (PCA) com necessidade de tratamento está associada a maior risco de HPIV. Por outro lado, Peter, Gandy e Hoffman (2017), definiram o uso de

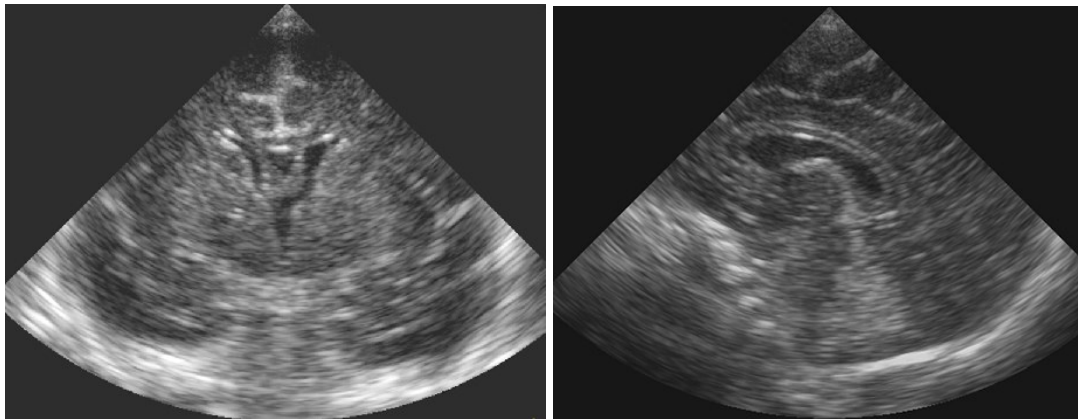
inotrópicos nas primeiras 72h de vida dos RNPT como preditor independente para HPIV, o que foi confirmado por outros autores (AZIZ *et al.*, 2020; PORYO *et al.*, 2018). O uso de inotrópicos aumenta a pós-carga do ventrículo esquerdo que, por sua vez, necessita ser compensada com aumento da pré-carga e da contratilidade cardíaca. Nos RNPT, o miocárdio apresenta capacidade limitada de responder a estas mudanças resultando na diminuição do débito cardíaco. Além disso, o aumento da pré-carga para os ventrículos pode associar-se a aumento da pressão na veia cava com redução do retorno venoso e aumento da pressão venosa cerebral que, por sua vez, podem predispor ao rompimento das veias da matriz germinativa (AZIZ *et al.*, 2020; TOYOSHIMA *et al.*, 2013).

2.4 Apresentação clínica e diagnóstico

A HPIV foi classificada em quatro graus por Papile *et al.* (1978) através de imagens de tomografias computadorizadas de crânios, com base na presença da hemorragia e dilatação ventricular, definindo os seguintes resultados: grau I a hemorragia é restrita à matriz germinativa subependimária; grau II a hemorragia atinge o ventrículo lateral; grau III quando a hemorragia atinge o ventrículo com dilatação do mesmo e grau IV a hemorragia intraventricular com extensão parenquimatosa.

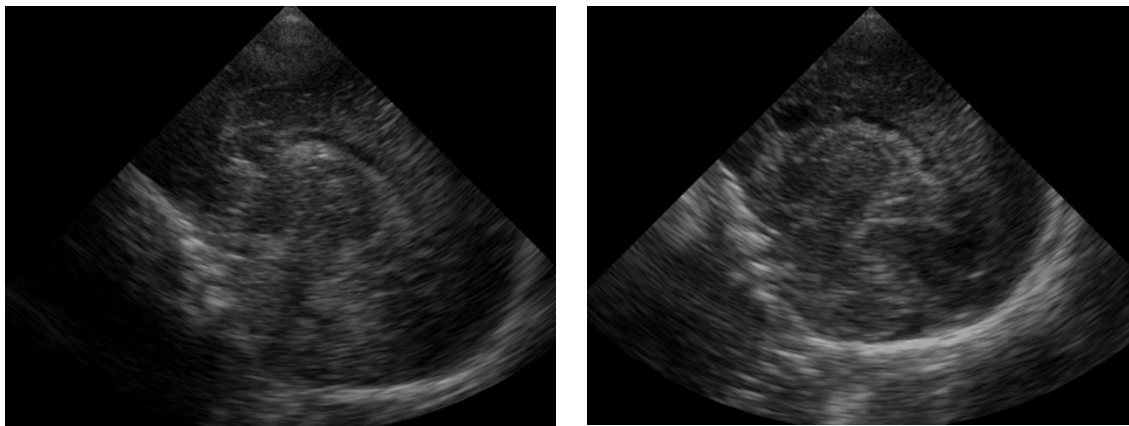
Na prática clínica, o diagnóstico e classificação são feitos através da ultrassonografia transfontanelar (LEIJSER; de VRIES; COWAN, 2006; van WEZEL-MEIJLER; STEGGERDA; LEIJSER, 2010; ZHANG *et al.*, 2018). Além de ser um exame seguro, de baixo custo, boa sensibilidade e especificidade, pode ser realizado a beira do leito pelo neonatologista, não requer sedação e pode ser repetido sempre que necessário. Zhang *et al.* (2018) demonstraram 88% de concordância entre a ultrassonografia e a ressonância nuclear magnética no diagnóstico de lesões cerebrais nos RNPT extremos no período neonatal. Apresenta como limitações a dependência da habilidade e da experiência do examinador e a dificuldade de visualização de algumas áreas cerebrais (van WEZEL-MEIJLER; STEGGERDA; LEIJSER, 2010).

As figuras 1 a 4 mostram imagens de ultrassonografia transfontanela nos planos coronal e sagital normal e com hemorragia peri-intraventricular de acordo com a classificação de Papile *et al.* (1978).



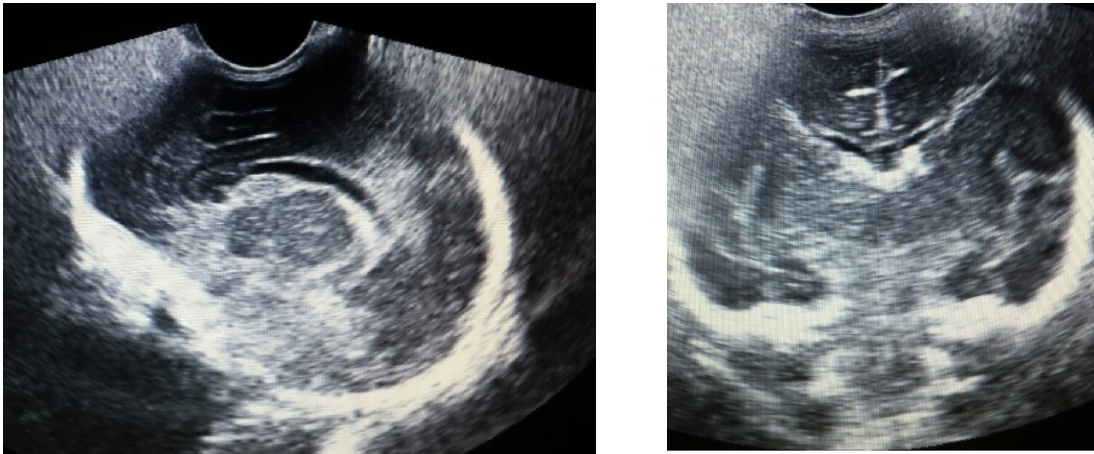
Fonte: próprio autor.

Figura 1. Imagem de ultrassonografia cerebral normal mostrando corte no plano coronal e plano sagital mediano.



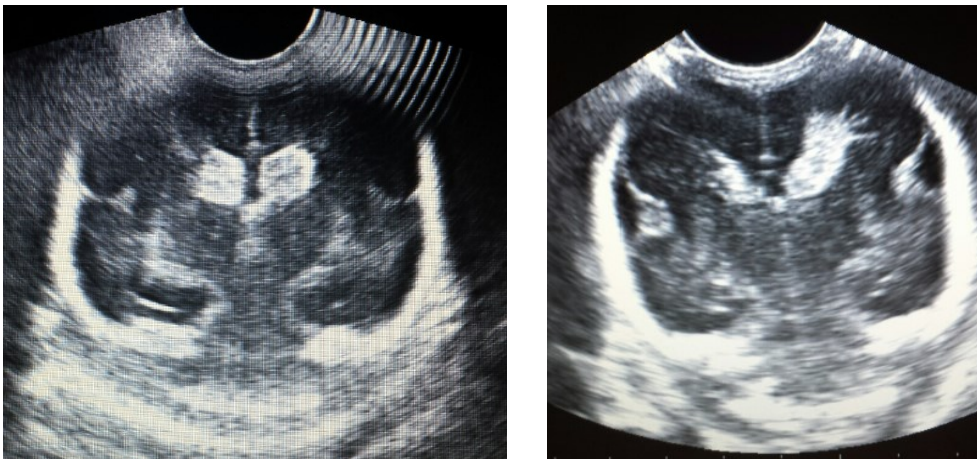
Fonte: próprio autor

Figura 2. Imagem de ultrassonografia cerebral de RNPT com HPIV grau I de Papile *et al.* (1978).



Fonte: próprio autor

Figura 3. Imagem de ultrassonografia cerebral de RNPT com HPIV grau II de Papile *et al.* (1978).



Fonte: próprio autor.

Figura 4. Imagem de ultrassonografia cerebral de RNPT com HPIV grau III e grau IV de Papile *et al.* (1978).

A maioria das crianças com HPIV é assintomática e o diagnóstico é feito durante exame ultrassonográfico de rotina. Alguns RNPT apresentam alterações discretas do nível de consciência, movimento dos membros, alterações do tônus e movimentos

oculares descoordenados. A apresentação clínica grave com instabilidade cardiorrespiratória, coma, hipotonia e convulsão é rara (VOLPE, 2008). Com base nisso, justifica-se a realização rotineira de ultrassonografia de crânio com o objetivo de diagnosticar precocemente as lesões cerebrais do RNPT, principalmente a HPIV. Os diversos protocolos preconizam a realização do exame nas primeiras 48-72h e no 7º dia de vida e depois a cada duas semanas até o termo.

2.5 Evolução

A evolução neurológica dos RNPT com HPIV é discutida na literatura com estudos mostrando comprometimento do desenvolvimento neurológico, além do risco relacionado à prematuridade. A lesão da matriz germinativa, mesmo após uma HPIV graus I e II, resulta em uma perda relevante de células precursoras da glia, levando à mielinização e ao desenvolvimento cortical prejudicados. Tortora *et al.* (2018) encontraram alterações microestruturais na substância branca periventricular e subcortical de RNPT com hemorragia grau I ou II e estes achados tinham correlação com resultados adversos de desenvolvimento neurológico aos 24 meses de idade. Patra *et al.* (2006) demonstraram maior incidência de sequelas motoras e pior desenvolvimento neuropsicomotor entre os RNPT com HPIV grau I e II aos 20 meses de idade corrigida, quando comparados com aqueles sem HPIV. Klebermass-Schrehof *et al.* (2012) demonstraram sequelas motoras e do desenvolvimento neuropsicomotor nos RNPT com todos os graus de HPIV aos cinco anos de idade corrigida. Observaram ainda piora significativa do desenvolvimento neuropsicomotor com o aumento dos graus da HPIV, enfatizando que mesmo os RNPT com baixos graus de HPIV (grau I e II) apresentavam alterações do desenvolvimento neuropsicomotor, especialmente nos RNPT muito prematuros.

Os RNPT que apresentam HPIV grave (graus III e IV) têm risco aumentado de evoluir com hidrocefalia pós-hemorrágica e cerca de 35% deles irão necessitar de inserção de válvula de derivação ventrículo peritoneal (CHRISTIAN *et al.*, 2016). Estes RN que evoluem com hidrocefalia pós-hemorrágica e necessidade de intervenção cirúrgica apresentam sequelas cognitivas e motoras, inclusive paralisia cerebral, mais frequentes aos 18-22 meses de idade corrigida, quando comparados com os que não necessitaram de intervenção cirúrgica ou não tiveram HPIV (ADAMS-CHAPMAN *et al.*, 2008).

2.6 Análise metabolômica

As ciências ômicas buscam o entendimento do funcionamento celular dos organismos e suas alterações biológicas. Estão representadas por um conjunto de ciências como a genômica (estudo das alterações dos genes), a transcriptômica (estudo das alterações dos transcritos), a proteômica (estudo das alterações das proteínas) e metabolômica (estudos das alterações dos metabólitos). A metabolômica é definida como a medida quantitativa dos metabólitos de um sistema biológico. Estes metabólitos são os produtos finais dos processos regulatórios celulares e seus níveis podem ser considerados a resposta final dos sistemas biológicos às mudanças genéticas ou ambientais (FIEHN, 2001).

Através da medida de conjuntos globais de metabólitos de baixo peso molecular (aminoácidos, ácidos orgânicos, açúcares, ácidos graxos, lipídeos), a análise metabolômica fornece o estado metabólico de uma célula, tecido ou organismo em relação as variações genéticas ou estímulos externos. A análise envolve duas etapas sequenciais que são a técnica experimental (ressonância magnética nuclear e espectrometria de massas) e a análise multivariada dos dados. É necessário definir qual a amostra biológica será analisada (fluido biológico, células, tecido, etc.) e o tipo de análise a ser empregada, global ou alvo, sendo a primeira baseada na análise quantitativa do maior número de metabólitos possível e a segunda, na análise quantitativa de um ou mais metabólitos pré-selecionados de determinada classe química (CANUTO *et al.*, 2018; TZOULAKI *et al.*, 2014). As abordagens globais fornecem maior potencial para a descoberta de novas associações metabólicas e vias de doenças; no entanto, as análises não direcionadas têm maior custo e, em alguns casos, a identificação do metabólito pode ser difícil (TZOULAKI *et al.*, 2014).

A metabolômica tem sido cada vez mais usada em várias áreas do conhecimento como análise ambiental, esportes, microbiologia, nutrição e clínica. Na última década, o número de estudos epidemiológicos com foco na metabolômica tem aumentado constantemente, destacando o crescente interesse científico nesta área de pesquisa (van ROEKEL *et al.*, 2019). A possibilidade de compreender os mecanismos fisiopatológicos bem como a resposta dos sistemas biológicos a estímulos endógenos e exógenos traz a possibilidade de prever a resposta a um determinado tratamento e potencializar os benefícios e reduzir os efeitos colaterais (TZOULAKI *et al.*, 2014; van ROEKEL *et al.*, 2019).

Na neonatologia tem sido utilizada na investigação de possíveis etiologias e fisiopatologias de doenças frequentes neste período da vida, com o objetivo de prevenir, diagnosticar precocemente ou instituir novas possibilidades terapêuticas, reduzindo assim a morbimortalidade destes RN.

Romero *et al.* (2010) estudaram o perfil metabólico do líquido amniótico em gestantes e definiram um conjunto de metabólitos capazes de identificar o risco de parto prematuro na presença ou ausência de inflamação.

Nolan *et al.* (2021) demonstraram diferenças significativas no perfil metabólico ao comparar o leite de 48 mães de RN com peso ao nascer inferior a 1.000g com aqueles com peso inferior a 1.500g.

Para avaliar o perfil metabólico dos RNPT com restrição de crescimento intrauterino (RCIU), Dessì *et al.* (2011) realizaram dosagens urinárias no 1º e 4º dias de vida de 26 RNPT com RCIU e compararam com 30 RNPT sem RCIU. Houve diferença do perfil metabólico entre os dois grupos com diferenças identificadas nas expressões do mio-inositol, sarcosina, creatina e creatinina.

A injúria renal aguda acarreta aumento da morbidade e mortalidade nos pacientes sendo o seu diagnóstico um desafio na assistência pediátrica e neonatal. Estudos encontraram perfis metabólicos urinários capazes de identificar precocemente esta patologia em crianças criticamente doentes (MUHLE-GOLL *et al.*, 2020) ou no pós-operatório de cirurgia cardíaca (BEGGER *et al.*, 2008) quando comparadas com crianças normais.

Em relação às patologias do período neonatal, Piñeiro-Ramos *et al.* (2021) encontraram diferentes metabólitos urinários em RN com encefalopatia hipóxico-isquêmica, diagnosticada na ressonância nuclear magnética, antes e durante a hipotermia terapêutica. Após 12h de hipotermia terapêutica, os resultados tornaram-se semelhantes.

Madorgan *et al.* (2021) demonstraram alterações dos metabólitos da glutatona e das vias do triptofano ao avaliarem a urina e o plasma de RNPT com e sem sepse precoce.

Piersigilli e Bhandari (2020) avaliaram aspirado traqueal de 68 RNPT e identificaram um conjunto de 53 metabólitos característicos de broncodisplasia pulmonar enquanto Pintus *et al.* (2018) encontraram aumento de alanina e betaína e redução do lactato e glicina na urina de RNPT com broncodisplasia pulmonar (BDP).

Zhou *et al.* (2021) avaliaram 83 RNPT e identificaram níveis plasmáticos significativamente alterados de 4 aminoácidos no grupo com retinopatia da prematuridade sendo eles: redução da creatinina e aumento de citrulina, arginina e ácido aminoadípico.

Além disso, Jiang *et al.* (2021) realizaram análise do perfil metabólico em porcos pré-termo com enterocolite necrosante, confirmada por análise microscópica, e identificaram níveis mais elevados de alanina, histidina e mio-inositol e níveis mais baixos de ácido 3-hidroxi-búterico e ácido isobúterico.

Há que se notar que os estudos mostram diferenças no perfil metabólico em recém-nascidos com asfíxia perinatal e encefalopatia hipóxico-isquêmica, restrição de crescimento intrauterino, enterocolite necrosante, injúria renal aguda, sepse precoce e broncodisplasia pulmonar.

Em relação a HPIV, os estudos são escassos na literatura. Sarafidis *et al.* (2019), ao comparar o perfil metabólico da urina de 18 RNPT, sendo 11 sem e 07 com HPIV, nos dias 1, 3 e 9 de vida, identificaram um conjunto de 20 metabólitos, entre os 40 analisados, que tinham relação com a ocorrência de HPIV principalmente no 1º dia da coleta. Foram identificados intermediários do metabolismo energético, aminoácidos, carboidratos e vitaminas que podem estar relacionados com os mecanismos fisiopatológicos da HPIV bem como ser usados como indicadores da presença ou da progressão da HPIV.

A tabela 1 resume os principais artigos publicados, demonstrando a aplicação clínica da metabolômica em neonatologia.

Tabela 1. Principais artigos publicados com análise metabolômica em neonatologia.

1º Autor	Ano	Revista	Patologia estudada	População estudada	Fluido biológico analisado	Resultado
BEGER, R. D.	2008	Pediatr Nephrol	IRA crianças pós-operatório de cirurgia cardíaca	40 crianças	Urina	O sulfato de ácido homovanílico (HVASO4) urinário representa um biomarcador preditivo de IRA após cirurgia cardíaca pediátrica.
ROMERO, R.	2010	Matern Fetal Neonatal Med	Nascimento prematuro	168 gestantes	Líquido amniótico	Perfil metabólico pode ser usado para avaliar risco de parto prematuro.
DESSI, A.	2011	Matern Fetal Neonatal Med	RCIU	56 RNPT	Urina	Houve diferença do perfil metabólico entre os dois grupos. Substâncias indentificadas: mio-inositol, sarcosina, creatina e creatinina.
PINTUS, M. C.	2018	Oxid Med Cell Longevy	Broncodisplasia pulmonar	18 RNPT	Urina	Nos RN com BDP observou-se aumento de alanina e betaína e redução do lactato e glicina.
SARAFIDIS, K.	2019	J Chromatogr	Hemorragia peri-intraventricular	18 RNPT	Urina	Dos 40 metabólitos analisados, houve diferença entre os grupos com e sem HPIV, em 20 deles (substâncias metabolismo energético, aminoácidos, carboidratos e vitaminas) principalmente na análise do 1º dia de vida.

(continua)

(Continuação)

MUHLE-GOLL, C.	2020	Int J Mol Sci	IRA em RN e crianças	149 RN e crianças 0-18 anos	Urina	Identificação de 04 metabólitos que permitiu o diagnóstico de IRA especialmente citrato urinário reduzidos, leucina e valina elevados nas crianças com IRA.
PIERSIGILLI, F.	2020	Clin Chim Acta	Broncodisplasia pulmonar	68 RNPT	Aspirado traqueal	Um conjunto de 53 metabólitos foi característico de BPD.
JIANG, Y-N.	2021	Metabolites	Enterocolite necrosante em porcos prematuros	47 porcos pré-termo	Plasma	Porcos com enterocolite necrosante grave tinham níveis mais elevados de alanina, histidina e <i>mio</i> -inositol e níveis mais baixos de ácido 3-hidroxi-butírico e ácido isobutírico.
MADERGAN, V.	2021	Metabolites	Sepse precoce	30 RNPT	Urina e Plasma	RNPT com sepsis precoce apresentaram alterações dos metabólitos da glutatona e das vias do triptofano.
NOLAN, L. S.	2021	Nutrients	Composição leite materno mães de RNPT	48 mães de RNPT	Leite humano	Houve diferenças significativas no perfil metabólico ao comparar o leite de mães de RNPT com peso inferior a 1.000g e 1.500g ao nascer.
PIÑEIRO-RAMOS, J. D.	2021	Pediatr Res	Asfixia perinatal e hipotermia terapêutica	55 RN	Urina	Observaram diferentes metabólitos urinários em RN com encefalopatia hipóxico-isquêmica antes e durante a hipotermia terapêutica. Após 12h de hipotermia terapêutica, os resultados tornaram semelhantes.
ZHOU, Y	2021	Int J Med Sci	Retinopatia da prematuridade	83 RNPT	Plasma	Níveis de 4 aminoácidos foram significativamente alterados no grupo ROP – redução da creatinina e aumento de citrulina, arginina e ácido aminoadípico.

Legenda: RCIU : restrição de crescimento intrauterino; IRA: injúria renal aguda; RN: recém-nascido; RNPT: recém-nascido pré-termo; BDP: broncodisplasia pulmonar; HPIV: hemorragia peri-intraventricular; ROP: retinoplasia da prematuridade. .

3. OBJETIVOS

Avaliar o perfil metabólico sanguíneo dos recém-nascidos pré-termo abaixo de 34 semanas e de muito baixo peso ao nascer com hemorragia peri-intraventricular aos dois dias de vida e identificar os fatores de risco associados à ocorrência de hemorragia peri-intraventricular entre o 2º e 7º dias de vida.

4. Artigo 1

Análise metabolômica do sangue de recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso ao nascer com hemorragia peri-intraventricular

Running-head: Metabolômica em recém-nascidos pré-termo.

Autores: Mariana Gonçalves Gomes Tavalone¹, Dra. Daniela Marques de Lima Mota Ferreira¹, Dra. Vânia Olivetti Steffen Abdallah², Dra. Larissa Prado Maia³, Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho (*in memoriam*)³, Dra. Vívian Mara Gonçalves de Oliveira Azevedo², Dr. Robinson Sabino da Silva²

Afiliações:

1. Serviço de Neonatologia, Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.
2. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Uberlândia.
3. Laboratório de Nanobiotecnologia, Instituto de Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia.

Autor correspondente

Nome: Mariana Gonçalves Gomes Tavalone

Endereço do autor: Avenida Para, 1720. Bairro Umuarama. Uberlândia MG. Telefone:

34 991028874. Email: mariana.tavalone@ufu.br

Palavras-chaves: metabólica; hemorragia cerebral intraventricular; recém-nascido prematuro

Lista de abreviaturas:

DHEG - Doença Hipertensiva Específica da Gestação

HPIV - Hemorragia peri-intraventricular

PIG: Pequeno para a idade gestacional.

PN - Peso de nascimento

RN - Recém-nascido

RNPT – Recém-nascido pré-termo

SNAP-PE II - Score for Neonatal Acute Physiology-Perinatal Extension II

SDR – Síndrome do Desconforto Respiratório

Resumo

Introdução: A fisiopatologia multifatorial da hemorragia peri-intraventricular (HPIV) é motivo de discussão na literatura e a análise metabólica tem sido proposta como forma de colaborar na sua elucidação. O objetivo deste estudo foi avaliar a diferença do perfil metabólico sanguíneo dos recém-nascidos pré-termo (RNPT) com e sem HPIV.

Métodos: Foram realizadas a análise metabolômica do sangue com dois dias de vida e a ultrassonografia de crânio entre 48-72h de vida de RNPT menores de 34 semanas e com peso inferior a 1.500g. Os dados clínicos foram obtidos dos prontuários dos RNPT.

Resultados: Foram incluídos 129 RNPT, sendo que 33 (25,5%) tinham HPIV. Os RNPT com HPIV foram reanimados em sala de parto com maior frequência (81,8% vs 62,5%; $p=0,041$), apresentaram menor idade gestacional ao nascer (27,1 vs 28,5 semanas; $p=0,003$) e maior pontuação no SNAP-PE II (37 vs 25; $p=0,017$). Além disso, receberam ventilação mecânica com maior frequência (69,7% vs 36,5%; $p=0,003$) e durante maior tempo (48h vs 20h $p<0,001$), administração de surfactante exógeno (94,0% vs 66,6%; $p=0,002$), sepse precoce (15,2% vs 2,1%; $p=0,04$) e óbito (33,0% vs 15,6%; $p=0,029$).

Com relação à análise metabolômica, foi observado maior expressão de monoacilglicerol (OR = 0,942, IC 95% = 0,897; 0,990) e de 10Z,13Z-ácido nonadecadienoico (OR = 0,868, IC 95% = 0,795; 0,947) nos RNPT sem HPIV. A concentração de β -isorenieratene foi maior naqueles RNPT com HPIV (OR = 1,065, IC 95% = 1,003; 1.130), bem como naqueles que receberam tratamento com drogas vasoativas (OR = 6,585, IC 95% = 2,008; 21.591).

Conclusão: Os metabólitos 10Z,13Z-ácido nonadecadienoico e a monoacilglicerol foram mais expressos nos RNPT com HPIV enquanto que a dosagem de β - isorenieratene foi maior entre os sem HPIV. Este resultado sugere a existência de diferenças no perfil metabólico dos RNPT com e sem hemorragia indicando a necessidade de mais estudos para confirmação e avaliação da sua utilização no entendimento e manejo dessa patologia.

Introdução

A hemorragia peri-intraventricular (HPIV) é a lesão cerebral mais frequente no período neonatal, principalmente nos recém-nascidos menores de 34 semanas de idade

gestacional (1). A curto prazo, a HPIV pode acarretar alteração do nível de consciência, choque, coma e convulsões. A longo prazo, aumenta o risco de sequelas motoras, cegueira, perda auditiva e atraso do desenvolvimento neuropsicomotor (2, 3). A etiologia multifatorial e a fisiopatologia da HPIV ainda são motivos de discussão na literatura (4, 5).

A HPIV inicia-se na matriz germinativa subependimal, área localizada entre o núcleo caudado e o tálamo, uma região rica em precursores gliais e neuronais que apresenta alta demanda metabólica, o que estimula a proliferação vascular. Esta angiogênese resulta na formação de vasos frágeis e suscetíveis a hemorragias (4). Além da fragilidade dos vasos sanguíneos da matriz germinativa, a flutuação do fluxo sanguíneo cerebral dos recém-nascidos pré-termo (RNPT) secundária a uma imaturidade da autorregulação cerebral e alterações de coagulação sanguínea e também plaquetopenia (4) têm papel fundamental na patogênese da HPIV.

A metabolômica, uma ciência ômica que busca o entendimento do funcionamento celular dos organismos e suas alterações biológicas, tem sido cada vez mais usada em neonatologia na investigação de possíveis etiologias e fisiopatologias de doenças frequentes neste período da vida, com os objetivos de prevenir e diagnosticar precocemente ou instituir novas possibilidades terapêuticas, reduzindo assim a morbimortalidade destes recém-nascidos (RN) (6). Estudos mostram a diferença de perfil metabólico em recém-nascidos com asfixia perinatal e encefalopatia hipóxico-isquêmica, restrição de crescimento intrauterino (7), enterocolite necrosante (8) e broncodisplasia pulmonar (9). Em relação a HPIV, são escassos os estudos na literatura (10). Sarafidis e colaboradores, ao comparar o perfil metabolômico da urina de RNPT com e sem HPIV nos dias 1, 3 e 9 de vida, identificaram um conjunto de metabólitos indicadores de HPIV principalmente no 1º dia da coleta (10).

Assim, o objetivo deste estudo foi comparar o perfil metabólico sanguíneo de RNPT com e sem HPIV aos dois dias de vida.

Material e métodos

Este estudo foi realizado no serviço de neonatologia de um hospital universitário no Brasil e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos Institucional (parecer número 974.356/2014).

Trata-se de um estudo transversal, em que foram incluídos os RN com idade gestacional abaixo de 34 semanas e peso de nascimento inferior a 1.500g, nascidos no período de junho de 2017 a agosto de 2019, cujos pais assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Foram excluídos os RNPT com malformações congênitas, síndromes genéticas, cromossomopatias, gemelares, que evoluíram para o óbito nas primeiras 48 horas de vida, que não realizaram exame de ultrassonografia no 2º dia de vida e aqueles que não tiveram coleta de amostras de sangue no 2º dia de vida.

Os dados clínicos e demográficos foram obtidos dos prontuários maternos e dos recém-nascidos.

Para o diagnóstico da HPIV foi utilizada a ultrassonografia transfontanelar entre 48 e 72 horas de vida. Os exames foram realizados à beira do leito, utilizando aparelho de ultrassonografia da marca ESAOTE®, modelo MyLab 25 Gold, transdutor microconvexo na frequência de 6 Mhz. A fontanela anterior foi utilizada como janela acústica para obtenção das imagens nos planos coronais e sagitais. Foi adotada a classificação de Papile (11) no diagnóstico e classificação da HPIV. Para a análise foram considerados todos os diagnósticos de HPIV, independente do grau observado.

Para a análise metabolômica, foram aproveitadas as amostras de sangue coletadas no segundo dia de vida do RN para realização de exames de rotina, não representando um novo procedimento para os mesmos.

Para a extração dos metabólitos foi adicionado 100µL de amostra (soro) com 1.000µL de metanol grau espectroscópico em eppendorf de 2mL e esta mistura foi incubada por 4 horas em ultrafreezer (-80°C). Na sequência, foi centrifugado por 15 minutos à 13.000g e o sobrenadante transferido para outro eppendorf de 2mL, o qual foi concentrado em concentrador a vácuo por 30 minutos e liofilizado. O material foi armazenado em ultrafreezer (-80°C) até o momento das análises.

Nas análises de espectrometria de massa, as amostras foram ressuspensas em 700µL de metanol grau espectroscópico, e filtradas em filtro de ponta de seringa com poro de 0,22 micrometro.

As análises de cromatografia líquida de alta eficiência hifenado ao espectrômetro de massas (CLAE/EM), em um CLAE (marca Agilent modelo Infinity 1260) hifenado ao espectrômetro de massas de alta resolução do tipo Q-TOF da marca Agilent® modelo 6520 B com fonte de ionização por electrospray (IES). Os parâmetros cromatográficos foram: coluna Agilent modelo Poroshell, 3mm de diâmetro interno, 10cm de comprimento, partículas de 2,7µm, a fase móvel, água acidificada com ácido fórmico (0,1% vv-1) (A) e metanol (B), com o gradiente, 10% de B (0 min), 98% de B (0-10 min); 98% de B (10-17 min). Os parâmetros de ionização foram pressão do nebulizador de 20psi, gás secante a 8L/min a uma temperatura de 220°C e no capilar foi aplicado uma energia de 4,5KV.

A identificação dos constituintes foi realizada levando em consideração a massa de alta resolução (considerando o erro com a massa exata menores que 10ppm), sendo estes dados cruzados com banco de dados e a literatura.

O software MassHunter Qualitative v. 10.0 foi utilizado para processar os dados brutos. A ferramenta “Molecular Feature Extraction (MFE)” foi utilizada para extração dos espectros de massa e conversão para extensão .CEF. O software Agilent Mass Profiler Professional (MPP) v. B.13.1.1 foi usado para filtrar e alinhar os compostos moleculares extraídos. Os filtros utilizados foram: abundância absoluta mínima = 10.000 contagens; número mínimo de íons permitidos = 2; todas as cargas permitidas. Os parâmetros de alinhamento foram: tolerância do tempo de retenção de 0,15 min; janela de massa 15ppm + 2mDa. Os compostos moleculares presentes em 75% de pelo menos um grupo foram retidos para análise posterior de dados.

As análises estatísticas foram realizadas com os valores transformados \log_2 .

Os metabólitos foram identificados por meio do banco de dados METLIN (incluídos no MPP). Para a realização do cálculo amostral foi utilizado o G* Power versão 3.1 (12) e considerada uma prevalência de HPIV de 30% de acordo com os dados do ano de 2015 do Serviço de Neonatologia da Instituição onde o estudo foi realizado, intervalo de confiança de 95% e erro máximo de 8%.

Foi utilizado o software SPSS Statistics for Windows, versão 20 para análise estatística das características clínicas e demográficas materna e dos recém-nascidos. Para os dados contínuos foram utilizadas as médias e desvio padrão e para avaliar as diferenças entre os dois grupos foram utilizados teste t ou teste de Mann Whitney. Para análise dos dados categóricos, foi aplicado o teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher. Foi realizada a análise multivariada utilizando a regressão logística binária. Considerou-se como significância estatística $p < 0,05$.

Resultados

Foram incluídos 129 RNPT neste estudo, sendo que 33 (25,5%) apresentaram HPIV aos dois dias de vida. Entre os RN que apresentaram HPIV, 13 (39,4%) foram classificadas como grau I, 12 (36,4%) grau II, 7 (21,2%) grau III e 1 (3%) grau IV.

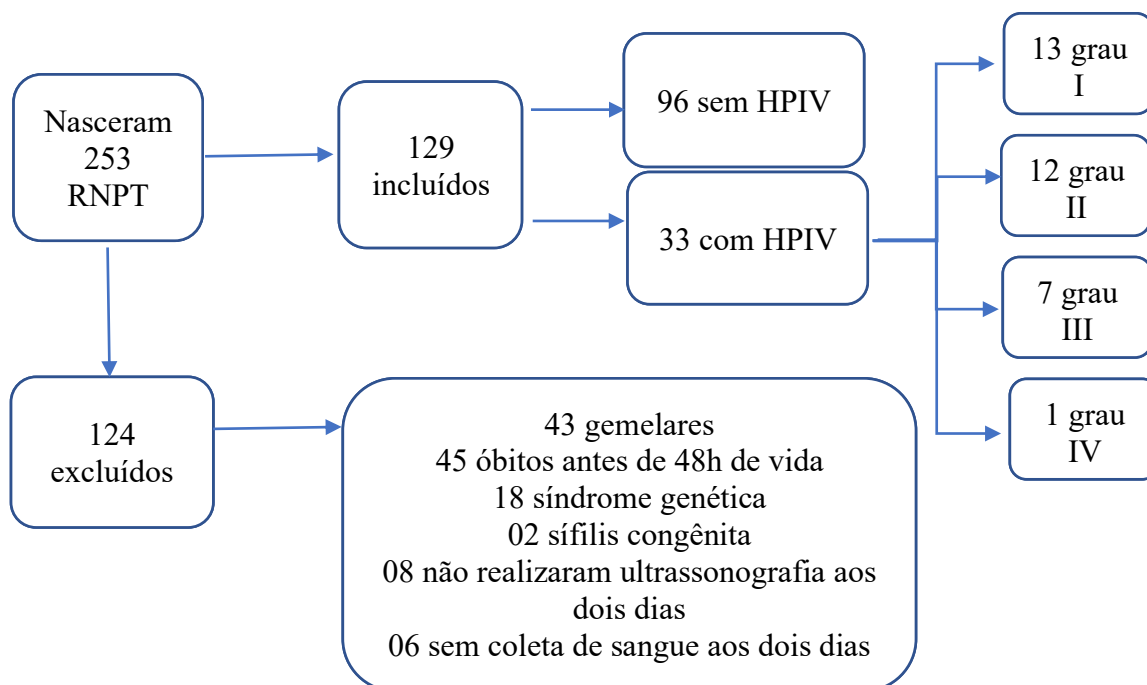


Figura 1. Fluxograma dos recém-nascidos incluídos no estudo

Quando comparados os grupos com e sem HPIV, quanto as características demográficas e clínicas maternas, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes, como mostra a tabela 1.

Quanto as características dos RN, a média da idade gestacional foi menor no grupo com HPIV, mas não foi observada diferença significativa em relação ao peso de nascimento. Entre os RN com HPIV houve maior necessidade de reanimação na sala de parto e maior porcentagem de RN com escore de Apgar menor que 7 no 1º min de vida.

Contudo, não houve diferença estatisticamente significativa na necessidade de intubação orotraqueal durante a reanimação neonatal e no Apgar de 5º min (Tabela 1).

Tabela 1. Características maternas e neonatais

	SEM HPIV (96)		COM HPIV (33)		p-valor
Idade materna (anos)**	27	(21-31)	25	(20-31)	0,583
União estável***	63	(65,6)	18	(54,5)	0,174
Primípara***	55	(57,3)	20	(60,6)	0,739
Consultas pré-natal**	5	(4-6)	5	(4-6)	0,720
Cesárea***	73	(76,0)	20	(60,6)	0,088
Corticoideantenatal***	80	(83,3)	25	(75,7)	0,335
DHEG***	33	(34,4)	8	(24,2)	0,281
Corioamnionite***	8	(8,3)	6	(18,2)	0,117
Idade gestacional (em semanas)*	28,5	(±2,2)	27,1	(±2,4)	0,003
Peso de nascimento (em gramas)**	985	(780-1305)	895	(630-1115)	0,110
Sexo	52	(54,2)	12	(36,4)	0,078
Masculino***					
Apgar 1' < 7***	47	(48,9)	23	(71,8)	0,028
Apgar 5' < 7 ***	13	(13,5)	6	(18,2)	0,516
Classificação PIG***	22	(22,9)	9	(27,3)	0,491
Reanimação na sala de parto***	60	(62,5)	27	(81,8)	0,041
Intubação na reanimação na sala de parto***	34	(56,6)	17	(62,9)	0,581

Nota: os valores são apresentados como média* e desvio padrão (DP) quando tem distribuição normal, mediana** e intervalo interquartil quando não tem distribuição normal ou número absoluto e porcentagem (%)***. Abreviações: DHEG: doença hipertensiva específica da gestação; PIG: pequeno para a idade gestacional. Negrito para valores de $p < 0,05$

Na tabela 2 são apresentados as principais morbidades e procedimentos realizados nos RNPT até o segundo dia de vida.

Em relação a análise dos metabólitos na amostra de sangue, colhida aos dois dias de vida, foram encontrados 37 compostos após o filtro de frequência. No entanto, apenas os compostos encontrados em 75% das amostras biológicas, dentro de pelo menos um grupo, foram consideradas. Após a análise estatística foram encontrados 3 compostos com diferença estatisticamente significantes entre os grupos.

Nos RNPT com HPIV foi encontrada uma maior concentração sanguínea do β -isorenieratene além de uma menor concentração do monoacilglicerol e do 10z,13z ácido nonadecadienoico.

Tabela 2. Morbidades e procedimentos realizados nos RNPT incluídos no estudo

	SEM HPIV (96)		COM HPIV (33)		p-valor
SNAPPE II**	25	(10-37)	37	(23-57)	0,017
Hipotermia até 2h de vida***	51	(53,1)	18	(54,5)	0,888
SDR***	86	(89,9)	33	(100)	0,054
Surfactante***	64	(66,6)	31	(94)	0,002
Plaquetopenia***	28	(29,2)	15	(45,5)	0,087
Sepse***	2	(2,1)	5	(15,2)	0,04
Necessidade de drogas vasoativas***	6	(6,3)	11	(33,3)	< 0,001
Hemotransfusão***	1	(1,1)	6	(18,2)	0,001
Ventilação mecânica invasiva***	35	(36,5)	23	(69,7)	0,003
Tempo de ventilação invasiva em horas até 2 dias de vida***	20	(0-48)	48	(27-48)	< 0,001
Óbito***	15	(15,6)	11	(33,3)	0,029

Nota: os valores são apresentados como média e desvio padrão (DP)* quando tem distribuição normal, mediana e intervalo interquartil** quando não tem distribuição normal ou número absoluto e porcentagem (%)***. Abreviações: SNAP-PE II: Score for Neonatal Acute Physiology Perinatal Extension II; SDR: Síndrome do Desconforto Respiratório. Negrito para valores de $p < 0,05$.

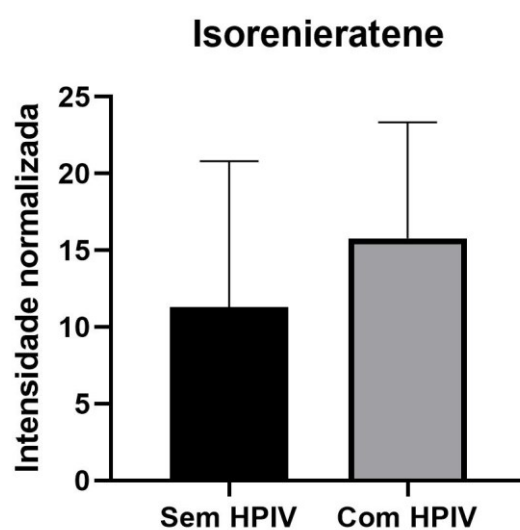


Figura 2. Intensidade da β -isorenieratene no sangue de dois dias dos RNPT incluídos no estudo

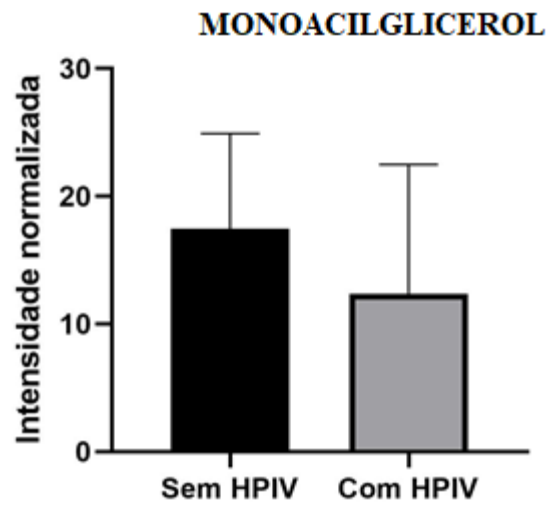


Figura 3. Intensidade da Monoacilglicerol no sangue de dois dias dos RNPT incluídos no estudo

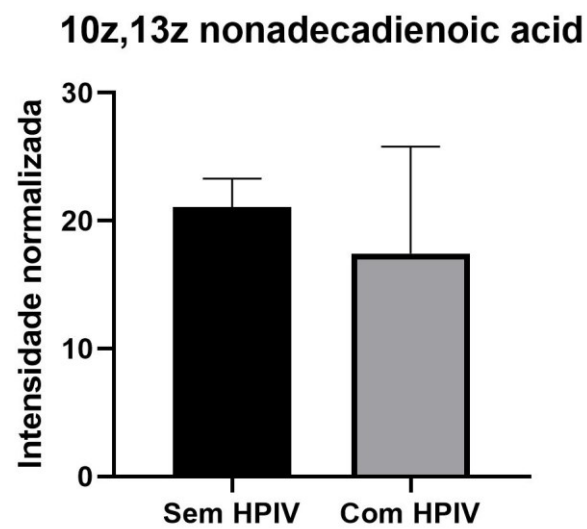


Figura 4. Intensidade do ácido nonadecadienoico no sangue de dois dias dos RNPT incluídos no estudo

A regressão logística binária foi realizada para verificar se a idade gestacional, necessidade de reanimação na sala de parto, sepse clínica, uso de drogas vasoativas, tempo de ventilação invasiva, necessidade de hemotransfusão e as dosagens de Monoacilglicerol, ácido 10Z,13Z_Nonadecadienoic e Isorenieratene estariam relacionadas com a ocorrência de HPIV.

O modelo contendo as 7 variáveis não foi superior a um modelo com menos variáveis incluídas ($p=0,407$), sendo adotado, portanto, o modelo contendo apenas 4 (monoacilglicerol, ácido 10Z,13Z_nonadecadienoico, β -Isorenieratene e drogas vasoativas). Este modelo contendo as 4 variáveis foi significativo [$X^2(4) = 35.058$; $p<0,001$; R^2 Negelkerke = 0.350].

A concentração de monoacilglicerol foi relacionada aos casos sem HPIV (OR = 0,942, IC 95% = 0,897; 0,990), bem como a concentração de 10Z,13Z-ácido nonadecadienoico (OR = 0,868, IC 95% = 0,795; 0,947). A maior concentração de β -isorenieratene foi relacionada, de forma significativa aos casos com HPIV (OR = 1,065, IC 95% = 1,003; 1.130) bem como aos casos que fizeram uso de drogas vasoativas (OR = 6,585, IC 95% = 2,008; 21.591) (Tabela 3).

Tabela 3 – Modelo de regressão logística para os preditores de HPIV nos RNPT incluídos no estudo

Variável	B	Graus de liberdade	Valor de p	Odds Ratio	IC 95% do Odds Ratio	
					Limite inferior	Limite Superior
β -isorenierateno	0,063	1	0,038	1,065	1,003	1,130
Monoacilglicerol	-0,060	1	0,017	0,942	0,897	0,990
Ácido 10z,13z nonadecadienoico	-0,142	1	0,001	0,868	0,795	0,945
Drogas vasoativas	1,885		0,002	6,585	2,008	21,591

Informações de ajuste dos modelos: 1 [$X^2(4) = 24.461$; $p<0,001$; R^2 Negelkerke = 0.254].; 2- [$X^2(3) = 27.440$; $p<0,001$; R^2 Negelkerke = 0.282]; 3- [$X^2(3) = 22.247$; $p<0,001$; R^2 Negelkerke = 0.233].4- [$X^2(4) = 35.058$; $p<0,001$; R^2 Negelkerke = 0.350]. Negrito para valores de $p<0,05$.
 Legenda: B: coeficiente beta; IC: intervalo de confiança.

Discussão

Este estudo incluiu 129 RNPT e constatou uma incidência de 25,5% de HPIV com predomínio dos graus I e II. Ao analisar os metabólitos sanguíneos, foram identificadas 03 substâncias com expressões diferentes nos grupos com e sem HPIV: β -isorenierateno, ácido nonadicoico e monoacilglicerol.

O β -isorenierateno foi encontrado em maior intensidade no grupo com HPIV. Esta substância é um carotenoide que é um pigmento encontrado em plantas, fungos e bactérias, obtido pelos mamíferos por meio de alimentos de origem vegetal (13). Estudos mostram que das várias centenas de carotenoides identificados na natureza, apenas alguns estão presentes na dieta humana e detectados na corrente sanguínea e nos tecidos humanos (13, 14). Em humanos e camundongos, as enzimas de clivagem do β -caroteno já foram identificadas nos tecidos em desenvolvimento como placenta, saco vitelino e embrião, o que sugere que estes tecidos são capazes de metabolizar os carotenoides (14).

Os carotenoides têm propriedades antioxidantes e são precursores da produção de vitamina A nos seres humanos. A capacidade antioxidante é atribuída a sua estrutura baseada no sistema de duplas ligações conjugadas que permite participação no ciclo de eliminação de oxigênio (14, 15). Estas substâncias desempenham papel significativo no desenvolvimento do sistema nervoso e no metabolismo energético do sistema nervoso central, bem como na prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo que podem afetar os RNPT (16). O β -isorenierateno é um caroteno raro cuja biossíntese foi identificada por cepa de actinobactéria onde a ação da enzima beta-caroteno dessaturase e incorporação de elétrons, o β -caroteno é transformado nesta substância (17). Como a hipóxia e a produção de radicais livres têm papel importante na fisiopatologia da HPIV, esta via pode ser uma explicação para o aumento da expressão do β -isorenierateno nestes

RN (4, 5). No entanto, outros experimentos necessitam ser realizados para confirmar esta hipótese.

O ácido 10z,13z nonadecadienoico é um ácido graxo poliinsaturado de cadeia longa com estrutura semelhante ao ácido linoleico, e, no presente estudo, sua expressão foi maior entre os RNPT sem HPIV tanto na comparação entre os grupos, quanto no modelo de análise multivariada. Os RNPT, principalmente os de muito baixo peso ao nascer, são frequentemente deficientes em ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa devido a redução da transferência da placenta, conversão limitada de precursores e redução da reserva de gorduras (18). Os ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, especialmente os araquidônicos e ácidos docosahexaenoicos são críticos para o desenvolvimento neural, visual e vascular. Estudos mostram que RNPT com baixos níveis sanguíneos destas substâncias apresentam maior incidência e gravidade de HPIV (18, 19), o que pode ser explicado pela alteração das membranas celulares e pela redução da atividade antiinflamatória dos produtos destas substâncias.

O monoacilglicerol é um glicerídeo composto por uma molécula de glicerol ligada a um ácido graxo por meio de ligação éster. É produzido a partir da ação da lipase pancreática nos triglicerídeos provenientes da dieta, no lúmen intestinal. Após a emulsificação, esta molécula lipídica, juntamente com ácido graxo, é reabsorvida pelo enterócito onde ocorre a síntese dos triglicerídeos que são secretados no sistema linfático em quilomícrons que, por sua vez, são absorvidos pelo músculo, tecido adiposo e fígado. Parte do monoacilglicerol é degradado pela enzima monoacilglicerol lipase em glicerol e ácido graxo (20). O aumento da concentração plasmática do monoacilglicerol pode ser resultado do aumento da sua produção, através do metabolismo do triglicerídeo, ou redução da degradação pela diminuição da ação da monoacilglicerol lipase. Estudos mostram que a redução da atividade desta enzima pode acarretar elevação da

concentração plasmáticas de substâncias com atividade antiinflamatória, como o araquidonilglicerol com ação no sistema nervoso central, o que poderia justificar a menor incidência da HPIV (21). Serão necessários novos estudos para definir o papel protetor do monoacilglicerol na ocorrência da HPIV.

Dentre os fatores clínicos avaliados, o uso de aminas vasoativas foi maior entre os RNPT com HPIV. Sabe-se que a instabilidade hemodinâmica pode resultar em alteração do fluxo sanguíneo cerebral com maior risco de ocorrência de HPIV (22). Por outro lado, há relatos de que o uso de inotrópicos nas primeiras 72h de vida dos RNPT pode ser preditor independente para HPIV (23, 24, 25). O aumento da pós-carga do ventrículo esquerdo necessita ser compensada com aumento da pré-carga e da contratilidade cardíaca. Nos RNPT, o miocárdio apresenta capacidade limitada de responder a estas mudanças resultando em diminuição do débito cardíaco com consequente alteração no fluxo sanguíneo cerebral. Além disso, o aumento da pré-carga para os ventrículos pode se associar a aumento da pressão da veia cava com redução do retorno venoso e, consequente, aumento da pressão venosa cerebral que, por sua vez, pode predispor a rompimento das veias da matriz germinativa (26, 27).

Diversos fatores perinatais interferem na ocorrência da HPIV. O grupo dos RN com HPIV apresentou menor média da idade gestacional quando comparados com os sem HPIV, mas em relação ao peso de nascimento a diferença não foi estatisticamente significativa entre os dois grupos. As deficiências na autorregulação cerebral aumentam o risco de lesão cerebral e estão associadas a menor idade gestacional e peso ao nascer, além de serem observados em RNPT em ventilação mecânica e instáveis hemodinamicamente (4, 28). A matriz germinativa reduz seu tamanho progressivamente com o aumento da idade gestacional, principalmente a partir de 32 semanas, o que,

juntamente com a melhora progressiva da regulação do fluxo sanguíneo cerebral, justifica maior incidência de HPIV quanto menor a IG do RN (29).

Dentre os fatores maternos, o uso de corticoide antenatal está associado a redução dos resultados adversos graves relacionados a prematuridade como a HPIV, SDR e necessidade de ventilação mecânica (30). Nesta situação, existe tanto um efeito direto sobre a incidência de HPIV, quanto um efeito secundário devido à redução de SDR e ventilação mecânica que configuram fatores de risco para a incidência de HPIV (27). Neste estudo, apesar da diferença não ser estatisticamente significativa, o uso de corticoide antenatal foi maior no grupo dos RN sem HPIV.

Os RN com HPIV apresentaram maior necessidade de reanimação na sala de parto, o que está diretamente ligada as condições de nascimento do RN sendo mais frequente naquele com menor idade gestacional e está relacionada ao aumento da mortalidade e morbidades neonatais (31). Está indicada quando os RN apresentam apneia ou bradicardia e está baseada em manobras que podem estar associadas a hipoxemia e alteração do fluxo sanguíneo cerebral resultando em maior risco de HPIV. Além disso, foi possível observar que a incidência da SDR e a necessidade de surfactante exógeno foram maiores entre os RN com HPIV, mas apenas este último mostrou diferença estatisticamente significativa. A SDR é uma das patologias mais frequentes entre os RNPT (32) e está associada a HPIV devido alterações das pressões intratorácicas que resultam em alterações do fluxo sanguíneo cerebral. A diferença nos resultados apresentados pode ser explicada pelo fato dos RN que necessitam de surfactante apresentam formas mais graves da SDR com alterações significativas da mecânica pulmonar bem como maior necessidade de ventilação mecânica invasiva. Salienta-se ainda que a necessidade de ventilação mecânica invasiva e o tempo de ventilação foi maior entre os RN com HPIV. A ventilação mecânica acarreta uma pressão intratorácica positiva que pode dificultar o

retorno venoso e reduzir o débito cardíaco resultando em flutuações do fluxo sanguíneo cerebral e aumento da pressão venosa cerebral e consequentemente aumento do risco de HPIV (23, 33).

A sepse neonatal precoce, que ocorre antes de 48h de vida, acarreta alterações inflamatórias na barreira hematoencefálica além de instabilidade hemodinâmica e maior necessidade de suporte ventilatório nos RNPT que podem justificar a maior prevalência desta patologia entre os RN com HPIV (26). O SNAPPE II (Score for Neonatal Acute Physiology Perinatal Extension II) é um escore usado para avaliar risco de mortalidade e morbidades dos RN admitidos nas unidades de terapia intensiva neonatal. Os RN que apresentam maiores valores deste escore, apresentam maior risco de óbito, mas também maior incidência de morbidades como a HPIV (34), como foi demonstrado neste estudo.

O presente estudo é um dos pioneiros na análise metabolômica para investigação das alterações metabólicas sanguíneas associadas a HPIV em RNPT de muito baixo peso ao nascer. Entretanto, apresenta como limitação a impossibilidade de controle das características clínicas e demográficas entre os grupos estudados, que podem interferir na ocorrência da HPIV.

Conclui-se, portanto, que a análise metabolômica do sangue dos RN mostrou diferença na concentração sanguínea de três substâncias sugerindo a necessidade de mais estudos para auxiliar na identificação de vias metabólicas importantes para o entendimento da fisiopatologia da HPIV e para o desenvolvimento de novas estratégias de prevenção e tratamento desta patologia. Além disso, este estudo confirmou a etiologia multifatorial da HPIV reforçando que o conhecimento destes fatores é particularmente importante na definição das estratégias do cuidado ao RNPT afim de reduzir a incidência da HPIV.

Agradecimentos

A equipe do Laboratório de Nanobiotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia e ao Serviço de Neonatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia pela seriedade e compromisso com a pesquisa e assistência; e as agências brasileiras de financiamento, CNPq, CAPES e FAPEMIG por fornecer apoio financeiro ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia e Nanobiotecnologia.

Referências

1. Ancel PY, Goffinet F, EPIPAGE-2 Writing Group. Survival and morbidity of preterm children born at 22 through 34 weeks' gestation in France in 2011 results of the EPIPAGE-2 Cohort Study. *JAMA Pediatr* 2015; 169:230-8. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2014.3351>
2. Klebermass-Schrehof K, Czaba C, Olischar M, Fuiko R, Waldhoer T, Rona Z, Pollak A, et al. Impact of low-grade intraventricular hemorrhage on long-term neurodevelopmental outcome in preterm infants. *Childs Nerv Syst* 2012; 28:2085-92. <https://doi.org/10.1007/s00381-012-1897-3>
3. Adams-Chapman I, Hansen NI, Stoll BJ, Higgins R. Neurodevelopmental outcome of extremely low birth weight infants with posthemorrhagic hydrocephalus requiring shunt insertion. *Pediatrics* 2008; 121:e1167-77. <https://doi.org/10.1542/peds.2007-0423>
4. Ballabh P. Pathogenesis and prevention of intraventricular hemorrhage. *Clin Perinatol* 2014; 41:47-67. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2013.09.007>
5. Novak CM, Ozen M, Burd I. Perinatal brain injury: mechanisms, prevention, and outcomes. *Clin Perinatol* 2018; 45:357-75. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2018.01.015>
6. Canuto GA, Costa JL, Cruz PLR, Souza ARL, Faccio AT, Klassen A, Rodrigues KT, et al. Metabolômica: definições, estado-da-arte e aplicações representativas. *Quim Nova* 2018; 41: 75-91. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170134>
7. Fanos V, Antonucci R, Barberini L, Noto A, Atzoni L. Clinical application of metabolomics in neonatology. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012; 25:104-9. <https://doi.org/10.3109/14767058.2012.663198>
8. Agakidou E, Agakidis C, Gika H, Sarafidis K. Emerging biomarkers for prediction and early diagnosis of necrotizing enterocolitis in the ERA of metabolomics and proteomics. *Front Pediatr* 2020; 8:602255. <https://doi.org/10.3389/fped.2020.602255>

9. Piersigilli F, Bhandari V. Metabolomics of bronchopulmonary dysplasia. *Clin Chim Acta* 2020; 500:109-14. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.09.025>
10. Sarafidis K, Begou O, Deda O, Gika H, Agakidis C, Efstathiou N, Theodoridis G. Targeted urine metabolomics in preterm neonates with intraventricular hemorrhage. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2019; 1104: 240-8. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.11.024>
11. Papile LA, Burstein J, Burstein R, Koffler H. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1,500 gm. *J Pediatr*. 1978; 92:529-4. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(78\)80282-0](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(78)80282-0)
12. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods* 2007; 39:175-91. <https://doi.org/10.3758/BF03193146>
13. Namitha KK, Negi PS. Chemistry and biotechnology of carotenoids. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2010; 50:728-60. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.499811>
14. Shete V, Quadro L. Mammalian metabolism of β -carotene: gaps in knowledge. *Nutrients* 2013; 5:4849-68. <https://doi.org/10.3390/nu5124849>
15. Fiedor J, Burda K. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients* 2014; 6:466-88. <https://doi.org/10.3390/nu6020466>
16. Zielinska MA, Wesolowska A, Pawlus B, Hamulka J. Health effects of carotenoids during pregnancy and lactation. *Nutrients* 2017; 9:838-63. <https://doi.org/10.3390/nu9080838>
17. MetaCyc Pathway: isorenieratene biosynthesis I (actinobacteria). Biocyc.org, 2021. Disponível em <URL biocyc.org/META/NEW-IMAGE?object=PWY-7938> Acesso em: 21 de outubro de 2021.
18. Fares S, Sethom MM, Hammami MB, Cheour M, Feki M, Hadj-Taieb S, Kacem S. Postnatal RBC arachidonic and docosahexaenoic acids deficiencies are associated with higher risk of neonatal morbidities and mortality in preterm infants. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2017; 126:112-6. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2017.09.015>
19. Tam EWY, Chau V, Barkovich AJ, Ferriero DM, Miller SP, Rogers EE, Grunau RE, et al. Early postnatal docosahexaenoic acid levels and improved preterm brain development. *Pediatr Res* 2016; 79:723-30. <https://doi.org/10.1038/pr.2016.11>
20. Alves-Bezerra M, Cohen DE. Triglyceride metabolism in the liver. *Compr Physiol*. 2017; 8: 1-8. <https://doi.org/10.1002/cphy.c170012>
21. Scalvini L, Piomelli D, Mor M. Monoglyceride lipase: structure and inhibitors. *Chem Phys Lipids* 2016; 197:13-24. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2015.07.011>

22. Rhee CJ, Costa CS, Austin T, Brady KM, Czosnyka M, Lee JK. Neonatal cerebrovascular autoregulation. *Pediatr Res* 2018; 84:602-0. <https://doi.org/10.1038/s41390-018-0141-6>
23. Peter DS, Gandy C, Hoffman SB. Hypotension and adverse outcomes in prematurity: comparing definitions. *Neonatology* 2017; 111:228-3. <https://doi.org/10.1159/000452616>
24. Aziz ANA, Thomas S, Murthy P, Rabi Y, Soraisham A, Stritzke A, Kamaluddeen M, et al. Early inotropes use is associated with higher risk of death and/or severe brain injury in extremely premature infants. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2020; 33:2751-8. <https://doi.org/10.1080/14767058.2018.1560408>
25. Poryo M, Boeckh JC, Gortner L, Zemlin M, Duppre P, Ebrahimi-Fakhari D, Wagenpfeil S, et al. Ante-, peri- and postnatal factors associated with intraventricular hemorrhage in very premature infants. *Early Hum Dev* 2018; 116:1-8. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2017.08.010>
26. Su B-H, Lin H-Y, Huang F-K, Tsai M-L, Huang Y-T. Circulatory management focusing on preventing intraventricular hemorrhage and pulmonary hemorrhage in preterm infants. *Pediatr Neonatol* 2016; 57:453-2. <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2016.01.001>
27. Toyoshima K, Kawataki M, Ohyama M, Shibasaki J, Yamaguchi N, Hoshino R, Itani Y, et al. Tailor-made circulatory management based on the stress-velocity relationship in preterm infants. *J Formos Med Assoc* 2013; 112: 510-7. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2013.02.011>
28. Rhee CJ, Fraser 3rd CD, Kibler K, Easley RB, Andropoulos DB, Czosnyka M, Varsos GV, et al. The ontogeny of cerebrovascular pressure autoregulation in premature infants. *J Perinatol* 2014; 34:926-1. <https://doi.org/10.1038/jp.2014.122>
29. Ballabh P. Intraventricular hemorrhage in premature infants: mechanism of disease. *Pediatr Res* 2010; 67:1-8. <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e3181c1b176>
30. Roberts D, Brown J, Medley N, Dalziel SR. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev* 2017; 3:CD004454. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004454.pub3>
31. Arnon S, Dolfen T, Reichman B, Regev RH, Lerner-Geva L, Boyko V, Litmanovitz I. Delivery room resuscitation and adverse outcomes among very low birth weight preterm infants. *J Perinatol* 2017; 37:1010-6. <https://doi.org/10.1038/jp.2017.99>
32. Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Shankaran S, Laptook AR, Walsh MC, Hale EC, et al. Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics* 2010; 126:443-6. <https://doi.org/10.1542/peds.2009-2959>
33. Aly H, Hammad TA, Essers J, Wung JT. Is mechanical ventilation associated with intraventricular hemorrhage in preterm infants? *Brain Dev* 2012; 34:201-5. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2011.04.006>

34. Dammann O, Naples M, Bednarek F, Shah B, Kuban CK, O'Shea TM, Paneth N, et al. SNAP-II and SNAPPE-II and the risk of structural and functional brain disorders in extremely low gestational age newborns: The ELGAN Study. *Neonatology* 2010; 97:71-82. <https://doi.org/10.1159/000232588>

5. ARTIGO 2

Fatores de risco para hemorragia peri-intraventricular em recém-nascidos pré-termo menores de 34 semanas entre 2 e 7 dias de vida.

Running-head: fatores de risco para hemorragia peri-intraventricular.

Autores: Mariana Gonçalves Gomes Tavalone¹, Dra. Daniela Marques de Lima Mota Ferreira¹, Dra. Vânia Olivetti Steffen Abdallah², Dra. Larissa Prado Maia³, Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho (*in memoriam*)³, Dra. Vívian Mara Gonçalves de Oliveira Azevedo², Dr. Robinson Sabino da Silva³.

Afiliações:

1. Serviço de Neonatologia, Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.
2. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Uberlândia.
3. Laboratório de Nanobiotecnologia, Instituto de Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia.

Autor correspondente

Nome: Mariana Gonçalves Gomes Tavalone

Endereço do autor: Avenida Para, 1720. Bairro Umuarama. Uberlândia MG. Telefone: 34 991028874. Email: mariana.tavalone@ufu.br

Palavras-chaves: hemorragia cerebral intraventricular; recém-nascido prematuro; fatores de risco

Lista de abreviaturas:

DHEG	- Doença Hipertensiva Específica da Gestação
HPIV	- Hemorragia peri-intraventricular
IG	- Idade gestacional
PCA	- Persistência do canal arterial
PN	- Peso de nascimento
RN	- Recém-nascidos
RNPT	- Recém-nascido pré-termo
SDR	- Síndrome do Desconforto Respiratório

Resumo

Introdução: O objetivo deste estudo foi conhecer os fatores de risco para a ocorrência da hemorragia peri-intraventricular (HPIV) entre 2 e 7 dias de vida em recém-nascidos pré-termos (RNPT) menores de 34 semanas de idade gestacional.

Método: foram incluídos os RNPT menores de 34 semanas de idade gestacional e peso de nascimento < 1.500g, com ultrassonografia de crânio normal no 2º dia de vida, nascidos no período de junho de 2017 a agosto de 2019. Não foram incluídos aqueles com malformações congênitas, síndromes genéticas e cromossomopatias e gemelares. Foram excluídos aqueles que evoluíram para o óbito nos primeiros 7 dias de vida e os que não realizaram exame de ultrassonografia no 2º e 7º dia de vida. Foi realizada a ultrassonografia no 7º dia de vida para o diagnóstico e classificação da HPIV de acordo com a classificação de Papile. Os dados clínicos e demográficos maternos e dos RNPT foram obtidos dos prontuários dos mesmos.

Resultados: Foram incluídos neste estudo, 99 RNPT e destes, 17 (17,2%) tiveram HPIV com 7 dias, sendo 5 (29,4%) grau I, 9 (52,9%) grau II e 3 (17,6%) grau III. A idade gestacional ($p=0,002$) e peso de nascimento ($p=0,009$) foram menores entre os RNPT com HPIV. Os RNPT com HPIV apresentaram incidência maior de pneumotórax ($p<0,001$), PCA ($p=0,003$), sepse ($p<0,001$), necessidade de aminas vasoativas ($p=0,018$), hemotransfusão ($p=0,002$), ventilação mecânica invasiva ($p=0,002$) e óbito ($p=0,03$). No modelo de regressão logística binária, a sepse apresentou relação com maior ocorrência de HPIV (OR=4,081, IC 95%= 1,034 - 16,116, valor- $p=0,045$).

Conclusão: A sepse, neste estudo, foi o principal fator de risco relacionado à HPIV em RNPT, após o segundo dia de vida.

Introdução

A hemorragia peri-intraventricular (HPIV) é a morbidade cerebral mais frequente nos recém-nascidos pré-termo (RNPT)¹, com incidência variável, sendo mais frequente quanto menor a idade gestacional (IG)^{2,3}. Na maioria das vezes tem apresentação assintomática ou oligossintomática e é diagnosticada através da ultrassonografia de crânio^{4,5}. Usualmente está associada a hidrocefalia pós-hemorragica, a sequelas neurológicas e déficits cognitivos a longo prazo⁶⁻⁸.

A HPIV ocorre na matriz germinativa, uma região rica em precursores de células gliais e neuronais. A etiologia é multifatorial, baseada em mecanismos fisiopatológicos como a fragilidade dos vasos sanguíneos da matriz germinativa⁹⁻¹¹, as flutuações do fluxo sanguíneo cerebral¹² e distúrbios de coagulação e plaquetopenia¹³.

A HPIV ocorre mais frequentemente nas primeiras 48h de vida, o que pode ser explicado pelo aumento da concentração de oxigênio no sangue e tecidos após 48-72h de vida. Este aumento de oxigênio suprime os mediadores que estimulam a angiogênese acelerada e, conseqüentemente, há formação de vasos menos imaturos e mais resistentes ao sangramento^{1,14}.

Além disso, neste período, os fatores maternos, as condições de nascimentos, morbidades e os procedimentos, como o não uso de corticoide, necessidade de reanimação na sala de parto, a síndrome do desconforto respiratório e necessidade de ventilação mecânica invasiva, desempenham papel importante como fatores de risco para a HPIV².

Contudo, observa-se que um número expressivo de RNPT ainda apresentam HPIV após 48h de vida e os estudos sobre os fatores de risco para a ocorrência de HPIV neste período vida são escassos^{15,16}. Sendo assim, o objetivo deste estudo é conhecer os fatores de risco para a ocorrência da HPIV entre 2 e 7 dias de vida de RNPT menores de 34 semanas de IG.

Método

Este estudo foi realizado no serviço de neonatologia de um hospital universitário de referência/Brasil e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos Institucional (parecer número 974.356/2014).

Trata-se de um estudo transversal, em que foram incluídos os RNPT com IG abaixo de 34 semanas e peso de nascimento (PN) menor que 1.500g, nascidos no período de junho de 2017 a agosto de 2019, cujos pais assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Não foram incluídos aqueles com malformações congênitas, síndromes genéticas e cromossomopatias e gemelares. Foram excluídos aqueles que evoluíram para o óbito nos primeiros 7 dias de vida, os que não realizaram exame de ultrassonografia no 2º e 7º dia de vida e os que apresentavam HPIV no 1º exame de ultrassonografia realizado entre 48-72h de vida.

Os dados clínicos e demográficos foram obtidos dos prontuários maternos e dos recém-nascidos. As variáveis maternas avaliadas foram: corticoide antenatal (qualquer

dose recebida pela mãe); diagnóstico de Doença Hipertensiva Específica da Gestação (DHEG); corioamnionite. Para os RNPT foram considerados: idade gestacional (considerou-se o ultrassonografia de 1º trimestre ou a data da última menstruação ou exame físico de acordo com critérios de New Ballard¹⁷); hipotermia (temperatura abaixo de 36°C na sala de parto e até 2h após a admissão na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal; plaquetopenia (plaqueta plasmática foi menor de 150.000/mL); sepse (definida como presença de hemocultura positiva ou presença de alterações clínicas compatíveis com infecção); e uso de drogas vasoativas. Para a análise dos dados, foram consideradas o pneumotórax, a persistência do canal arterial, a plaquetopenia, a sepse, a necessidade de drogas vasoativas, a hemotransfusão e a ventilação mecânica que ocorreram entre 48h e o sétimo dia de vida.

Para o diagnóstico da HPIV foi utilizada a ultrassonografia transfontanelar entre 48 e 72 horas de vida e naqueles que tinham exame normal, incluídos no estudo, este exame foi repetido com 7 dias de vida. Os exames foram realizados à beira do leito, utilizando aparelho de ultrassonografia da marca ESAOTE®, modelo MyLab 25 Gold, transdutor microconvexo na frequência de 6 Mhz. A fontanela anterior foi utilizada como janela acústica para obtenção das imagens nos planos coronais e sagitais. Foi adotada a classificação de Papile¹⁸ no diagnóstico e classificação da HPIV. Para a análise foram considerados todos os diagnósticos de HPIV independente do grau observado.

Foi utilizado o software SPSS Statistics for Windows, versão 20 para análise dos dados. Para os dados contínuos foram utilizadas as médias e desvio padrão e para avaliar as diferenças entre os dois grupos foram utilizados teste t ou teste de Mann Whitney. Para análise dos dados categóricos, foi utilizado o teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher. Foi feita também análise multivariada utilizando a regressão logística binária tendo como desfecho a presença da HPIV aos 7 dias de vida. Considerou-se como significância estatística $p < 0,05$.

Resultados

No período do estudo, nasceram 253 RNPT com idade gestacional menor que 34 semanas e peso de nascimento abaixo de 1.500g. Destes, 99 foram incluídos neste estudo pois apresentaram ultrassonografia de crânio normal aos dois dias de vida. Destes, 17 (17,17%) tiveram diagnóstico de HPIV no sétimo dia de vida, sendo 5 (29,4%) grau I, 9 (52,9%) grau II e 3 (17,6%) grau III. Nenhum recém-nascido (RN) apresentou HPIV grau IV no sétimo dia de vida.

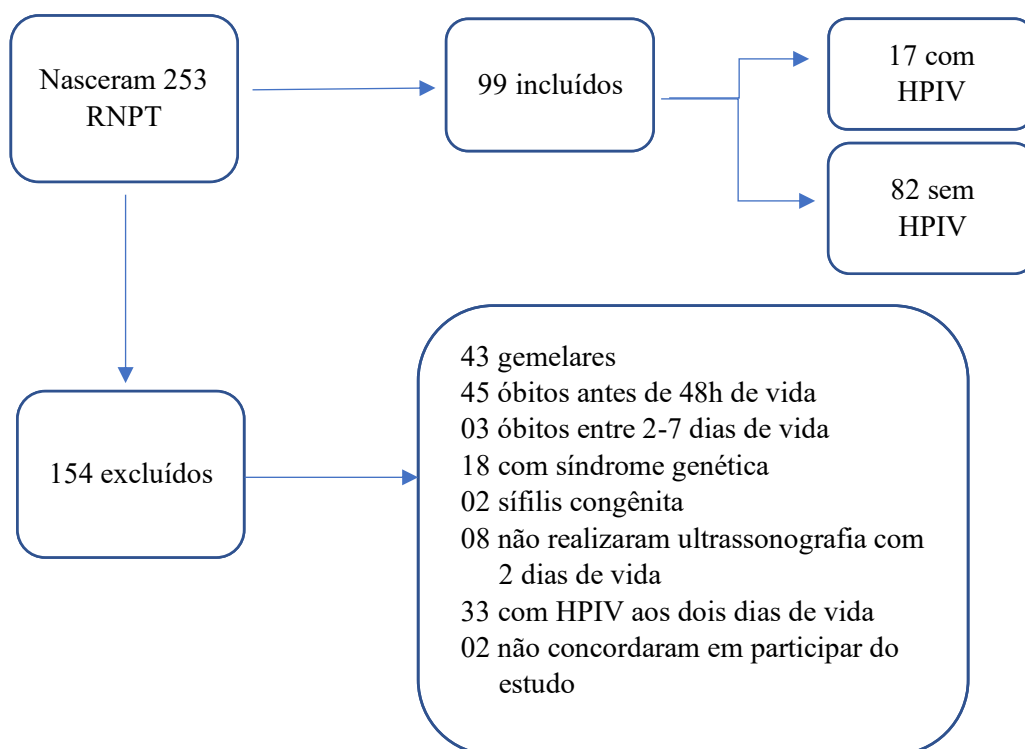


Figura 1. Fluxograma dos recém-nascidos junho 2017 a agosto 2019.

Os dados demográficos maternos e dos recém-nascidos estão apresentados na tabela 1. Observa-se que a idade gestacional e peso de nascimento foram menores entre os RNPT que apresentaram HPIV não havendo diferenças estatisticamente significantes entre as outras variáveis analisadas.

Tabela 1. Características maternas e neonatais.

	SEM HPIV (82)		COM HPIV(17)		p-valor
Idade materna (anos)**	27	(20-32)	24	(22-28)	0,403
União estável***	53	(64,6)	11	(64,7)	0,702
Primípara***	43	(52,4)	12	(70,6)	0,171
Consultas pré-natal**	5	(4-6)	5	(3-6)	0,400
Cesárea***	63	(76,8)	12	(70,5)	0,585
Corticoide antenatal***	70	(85,3)	13	(76,4)	0,365
DHEG***	31	(37,8)	5	(29,4)	0,513
Corioamnionite***	7	(8,5)	1	(5,9)	0,715
Idade gestacional (em dias)*	202,5	(±15,6)	189,8	(±12,3)	0,002
Peso de nascimento (em gramas)**	1048	(820-1320)	858	(700-970)	0,009
Sexo Masculino***	44	(53,6)	10	(58,8)	0,697
Apgar 1' <7***	38	(46,3)	10	(58,8)	0,372
Apgar 5' <7 ***	10	(12,2)	2	(11,8)	0,961
Classificação PIG***	18	(21,9)	2	(11,7)	0,341
Reanimação na sala de parto***	50	(61,0)	11	(64,7)	0,773

Nota: os valores são apresentados como média* e desvio padrão (DP) quando tem distribuição normal, mediana** e intervalo interquartil quando não tem distribuição normal ou número absoluto e porcentagem (%)***. Legenda: DHEG: doença hipertensiva específica da gestação; PIG: pequeno para a idade gestacional.

Na tabela 2 são apresentadas as principais morbidades e os procedimentos realizados nos RNPT entre o 2º e 7º dias de vida. Os RN com HPIV apresentaram maior frequência de pneumotórax (17,6% vs 0,0%, $p < 0,001$), PCA com necessidade de tratamento (35,3% vs 12,2%, $p=0,003$), sepse (41,2% vs 8,5%, $p < 0,001$), necessidade de aminas vasoativas (41,2% vs 11,0%, $p=0,018$), ventilação mecânica invasiva (100,0% vs 61,0%, $p=0,002$) e óbito (35,3% vs 8,5%, $p=0,03$).

Tabela 2. Morbidades e procedimentos realizados nos RNPT incluídos no estudo.

	SEM HPIV (82)		COM HPIV (17)		p-valor
SNAP-PE II**	22	(5-34)	32	(15-42)	0,088
Hipotermia até 2 horas de vida***	40	(48,8)	12	(70,5)	0,101
SDR***	74	(90,2)	16	(94,1)	0,613
Pneumotórax***	0	(0,0)	3	(17,6)	< 0,001
PCA com necessidade de tratamento***	10	(12,2)	6	(35,3)	0,003
Plaquetopenia***	21	(25,6)	7	(41,8)	0,195
Sepse***	7	(8,5)	7	(41,2)	< 0,001
Necessidade de drogas vasoativas***	13	(15,8)	7	(41,2)	0,018
Hemotransusão***	9	(11)	7	(41,2)	0,002
Ventilação mecânica invasiva***	50	(61)	17	(100)	0,002
Tempo de ventilação invasiva (horas)**	3	(1-13)	9	(5-17)	0,126
Óbito***	7	(8,5)	6	(35,3)	0,03

Nota: os valores são apresentados como média e desvio padrão (DP)* quando tem distribuição normal, mediana e intervalo interquartil** quando não tem distribuição normal ou número absoluto e porcentagem (%)***. Legenda: SNAP-PE II: *Score for Neonatal Acute Physiology Perinatal Extension II*; SDR: *Síndrome do Desconforto Respiratório*; PCA: *Persistência do canal arterial*.

A regressão logística binária foi realizada para verificar se as variáveis com diferença estatisticamente significantes na análise univariada (idade gestacional, presença de sepse, pneumotórax, persistência do canal arterial com necessidade de tratamento, uso de ventilação mecânica invasiva, realização de hemotransusão e uso de aminas vasoativas) estariam relacionadas à ocorrência de HPIV.

O modelo contendo as 7 variáveis não foi superior a um modelo com menos variáveis incluídas ($p=0,882$), sendo adotado, portanto, o modelo contendo apenas 4 (idade gestacional, sepse, ventilação invasiva e persistência do canal arterial com necessidade de tratamento). Este modelo contendo as 4 variáveis foi significativo, no qual, apenas a sepse apresentou relação com maior ocorrência de HPIV (OR=4,081, IC 95% = 1,034 - 16,116, valor- $p=0,045$)

Tabela 3 – Modelo de regressão logística para os preditores de HPIV nos RNPT incluídos no estudo.

Variável	B	Graus de liberdade	Valor de p	Odds Ratio	IC 95% do limite inferior	Odds Ratio limite superior
Idade gestacional	-0,17	1	0,516	0,983	0,934	1,035
Sepse	1,406	1	0,045	4,081	1,034	16,116
Ventilação invasiva	18,664	1	0,998			
PCA	19,265	1	0,992			

Informações de ajuste dos modelos: $[X^2(4) = 61,74; p < 0.033; R^2\text{Negelkerke} = 0.424]$. *Legenda: B: coeficiente beta; IC: intervalo de confiança; PCA: persistência do canal arterial.*

Discussão

No período do estudo, 17,17% dos RNPT que apresentavam ultrassonografia de crânio normal aos dois dias de vida evoluíram com HPIV até o 7º dia de vida. Destes, 5 RN (29,4%) apresentaram HPIV grau I, 9 (53%) apresentaram HPIV grau II e 3 (17,6%) tinham HPIV grau III. Nenhum RN apresentou HPIV grau IV. A sepse mostrou relação com a HPIV tanto na análise univariada quanto no modelo construído para análise de regressão logística binária.

A presença de sepse pode acarretar alterações inflamatórias na barreira hematoencefálica além de alterações moleculares na vasculatura da matriz germinativa predispondo a hemorragia^{1,2,14}. Ao avaliar os desfechos neonatais de RNPT filhos de mães com evidência de inflamação intrauterina, Nayeri *et al.* (2018)¹⁹ observaram que a HPIV, juntamente com a sepse tardia e retinopatia da prematuridade, foram mais frequentes nestes RN quando comparados com aqueles nascidos de mães sem evidência de inflamação. Resultado semelhante havia sido descrito por Moscuzza *et al.* em 2001²⁰. Estes estudos podem sugerir o papel da inflamação na fisiopatologia da HPIV apesar de não ter sido avaliado o momento em que ocorreu a HPIV. Por outro lado, Babnik *et al.* (2006)²¹ avaliaram a associação entre a inflamação placentária e fetal com a presença de HPIV precoce, que acontece no primeiro dia de vida, e tardia, que ocorre após este período. Foram identificados como fatores de risco para HPIV precoce a presença de inflamação placentária e fetal além da ausência de uso de corticoide antenatal. Entretanto, foram identificados como fatores de risco para HPIV tardia, a Síndrome do desconforto respiratório (SDR), a ventilação mecânica, hipotensão e uso de vasopressores. A presença de sepse tardia não foi avaliada.

Além disso, a sepse pode resultar em instabilidade hemodinâmica e maior necessidade de suporte ventilatório nos RNPT que podem justificar sua maior prevalência

entre os RN com HPIV²². Osborn *et al.* (2003)¹⁵ ao avaliar os fatores de risco para HPIV após o primeiro de vida, identificaram, como fator de risco independente, a presença de alterações hemodinâmicas como baixo fluxo na veia cava superior.

Neste estudo, a necessidade de ventilação mecânica invasiva bem como a presença de pneumotórax, apesar de não significativa na análise multivariada, foi maior entre os RNPT com HPIV. A ventilação mecânica invasiva, através da pressão intratorácica positiva, e a presença de pneumotórax podem dificultar o retorno venoso e reduzir o débito cardíaco resultando em flutuações do fluxo sanguíneo cerebral e aumento da pressão venosa cerebral, consequentemente aumento do risco de HPIV²³.

A instabilidade hemodinâmica pode resultar em alteração do fluxo sanguíneo cerebral com maior risco de ocorrência de HPIV²⁴. Por outro lado, o uso de inotrópicos nas primeiras 72h de vida dos RNPT foi definido, em estudos prévios, como preditor independente para HPIV^{15,24,25}. O aumento da pós-carga do ventrículo esquerdo necessita ser compensada com aumento da pré-carga e da contratilidade cardíaca. Nos RNPT o miocárdio apresenta capacidade limitada de responder a estas mudanças resultando em diminuição do débito cardíaco. Além disso, o aumento da pré-carga para os ventrículos pode se associar a aumento da pressão da veia cava com redução do retorno venoso e, consequente, aumento da pressão venosa cerebral que, por sua vez, pode predispor a rompimento das veias da matriz germinativa^{26,27}.

Neste estudo, os RNPT com HPIV apresentaram maior frequência de PCA com necessidade de tratamento, semelhante aos achados de Larocque *et al.* (2019)²⁸. O canal arterial pode resultar em desvio de sangue da circulação esquerda para a direita com prejuízo do débito cardíaco com consequente alteração do fluxo sanguíneo cerebral. Além disso, os RNPT com HPIV receberam mais transfusão de concentrado de hemácias quando comparados com os RNPT sem HPIV. Estudos mostram uma relação entre transfusão de concentrado de hemácias e a ocorrência de HPIV ou mesmo piora do grau da HPIV naqueles RNPT que já apresentavam HPIV. Ainda não está claro se esta relação é causada pela própria transfusão ou esta seria uma necessidade destas crianças após evoluir com anemia em decorrência do sangramento na matriz germinativa^{29,30}.

O momento em que ocorre a HPIV é motivo de investigação e discussão na literatura pois esta informação interfere nos estudos relacionados aos fatores de risco desta patologia. Quanto mais precoce ocorre a HPIV maior é a relação com os fatores maternos e condições de nascimento. Estudos mostram que cerca de 50% das HPIV ocorrem nas primeiras 24h de vida^{31,32} e 90% em até 72h de vida¹. Após este período,

espera-se que os fatores de risco perinatais tenham menor interferência na incidência da HPIV. Observa-se neste estudo que não houve diferença entre os grupos com e sem HPIV em relação aos fatores maternos como uso de corticoide antenatal, corioamnionite, DHEG bem como em relação aos fatores do RN como tipo de parto, necessidade de reanimação na sala de parto, boletim de Apgar e classificação do RN.

Este estudo avaliou os fatores relacionados a HPIV após 48h de vida, momento em que a influência dos fatores perinatais, já definidos na literatura, na ocorrência da HPIV é reduzida. A partir desta idade, predominam as patologias do RN na fisiopatologia da HPIV. Como a HPIV é uma patologia que aumenta a morbimortalidade dos RNPT, conhecer estes fatores é importante para a definição das estratégias do cuidado ao RNPT afim de reduzir a incidência da HPIV.

Apresenta como limitações a não realização de ultrassonografia diárias entre o segundo e sétimo dia de vida o que possibilitaria a identificação mais fidedigna do momento em que ocorreu a HPIV e os fatores associados a mesma.

Este estudo demonstrou a sepse como principal fator relacionado com HPIV após o segundo dia de vida. Além desses fatores, a ventilação mecânica invasiva, o pneumotórax, a persistência do canal arterial (PCA) com necessidade de tratamento, a hemotransusão e aminas vasoativas como fatores relacionados com a HPIV.

Agradecimentos

A equipe do Laboratório de Nanobiotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia e ao Serviço de Neonatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia pela seriedade e compromisso com a pesquisa e assistência; e as agências brasileiras de financiamento, CNPq, CAPES e FAPEMIG por fornecer apoio financeiro ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia e Nanobiotecnologia.

Referências

1. Volpe JJ. Intracranial hemorrhage: germinal matrix – intraventricular hemorrhage of premature infant. In: Volpe JJ. Neurology of the Newborn. 5th ed. Philadelphia, PA: WB. Saunders; 2008. p. 517-573. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-3995-2.10011-1>

2. Poryo M, Boeckh JC, Gortner L, Zemlin M, Duppréd P, Ebrahimi-Fakhari D et al. Ante-, peri- and postnatal factors associated with intraventricular hemorrhage in very premature infants. *Early Hum Dev.* 2018; 116:1-8.
<https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2017.08.010>
3. Yeo KT, Thomas R, Chow SS, Bolisetty S, Haslam R, Tarnow-Mordi W et al. Improving incidence trends of severe intraventricular haemorrhages in preterm infants < 32 weeks gestation: a cohort study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2020; 105(2):145-150. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2018-316664>
4. van Wezel-Meijler G, Steggerda SJ, Leijser LM. Cranial ultrasonography in neonates: role and limitations. *Semin Perinatol.* 2010; 34(1):28-38.
<https://doi.org/10.1053/j.semperi.2009.10.002>
5. Leijser LM, Veries LS, Cowan FM. Using cerebral ultrasound effectively in the newborn infant. *Early Hum Dev.* 2006; 82(12):827-835.
<https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2006.09.018>
6. Christian EA, Jin DL, Attenello F, Wen T, Cen S, Mack WJ et al. Trends in hospitalization of preterm infants with intraventricular hemorrhage and hydrocephalus in the United States, 2000-2010. *J Neurosurg Pediatr.* 2016; 17(3):260-269.
<https://doi.org/10.3171/2015.7.PEDS15140>
7. Klebermass-Schrehof K, Czaba C, Olischar M, Fuiko R, Waldhoer T et al. Impact of low-grade intraventricular hemorrhage on long-term neurodevelopmental outcome in preterm infants. *Childs Nerv Syst.* 2012; 28(12):2085-2092.
<https://doi.org/10.1007/s00381-012-1897-3>
8. Tortora D, Martinetti C, Severino M, Uccella S, Malova M, Parodi A, Brera F et al. The effects of mild germinal matrix-intraventricular haemorrhage on the developmental white matter microstructure of preterm neonates: a DTI study. *Eur Radiol.* 2018; 28(3):1157-1166. <https://doi.org/10.1007/s00330-017-5060-0>
9. Braun A, Xu H, Hu F, Kocherlakota P, Siegel D, Chander P et al. Paucity of pericytes in germinal matrix vasculature of premature infants. *J Neurosci.* 2007; 27(44):12012-12024. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3281-07.2007>
10. El-Khoury N, Braun A, Hu F, Pandev M, Nedergaard M, Lagamma EF et al. Astrocyte end-feet in germinal matrix, cerebral cortex, and white matter in developing infants. *Pediatr Res.* 2006; 59(5):673-679. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000214975.85311.9c>
11. Xu H, Hu F, Sado Y, Ninomiya Y, Borza D-B, Ungvari ZE et al. Maturation changes in laminin, fibronectin, collagen IV, and perlecan in germinal matrix, cortex, and white matter and effect of betamethasone. *J Neurosci Res.* 2008; 86(7):1482-1500.
<https://doi.org/10.1002/jnr.21618>
12. Soul JS, Hammer PE, Tsuji M, Saul JP, Bassan H, Limperopoulos C et al. Fluctuating pressure-passivity is common in the cerebral circulation of sick premature infants. *Pediatr Res.* 2007; 61(4):467-473.
<https://doi.org/10.1203/pdr.0b013e31803237f6>

13. Duppré P, Sauer H, Giannopoulou EZ, Gortner L, Nunold H, Wagenpfeil S et al. Cellular end humoral coagulation profiles and occurrence of IVH in VLBW and ELBW infants. *Early Hum Dev.* 2015; 91(12):695-700.
<https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2015.09.008>
14. Ballabh P. Pathogenesis and prevention of intraventricular hemorrhage. *Clin Perinatol.* 2014; 41(1):49-67. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2013.09.007>
15. Osborn DA, Evans N, Kluckow M. Hemodynamic and antecedent risk factors of early and late periventricular/intraventricular hemorrhage in premature infants. *Pediatrics.* 2003; 112(1 Pt 1):33-39. <https://doi.org/10.1542/peds.112.1.33>
16. Krediet TG, Kavelaars A, Vreman HJ, Heijnen CJ, van Bel F. Respiratory distress syndrome-associated inflammation is related to early but not late peri/intraventricular hemorrhage in preterm infants. *J Pediatr.* 2006; 148(6):740-746.
<https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2006.01.037>
17. Ballard JL, Khoury JC, Wedig K, Wang L, Eilers-Walsman BL, Lippr R. New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants. *J Pediatr.* 1991; 119(3):417-423.
[https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(05\)82056-6](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(05)82056-6)
18. Papile LA, Burstein J, Burstein R, Koffler H. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1,500gm. *J. Pediatr.* 1978; 92(4):529-534. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(78\)80282-0](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(78)80282-0)
19. Naveri UA, Buhimschi CS, Zhao G, Buhimschi IA, Bhandari V. Components of the antepartum, intrapartum, and postpartum exposome impact on distinct short-term adverse neonatal outcomes of premature infants: a prospective cohort study. *PLoS One* 2018; 13(12):e0207298. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207298>
20. Moscuza F, Belcari F, Nardini V, Bartoli A, Domenici C, Cuttano A et al. Correlation between placental histopathology and fetal/neonatal outcome: chorioamnionitis and funisitis are associated to intraventricular haemorrhage and retinopathy of prematurity in preterm newborns. *Gynecol Endocrinol.* 2011; 27(5):319-323. <https://doi.org/10.3109/09513590.2010.487619>
21. Babnik J, Stucin-Gantar I, Kornhauser-Cerar L, Sinkovec J, Wraber B, Derganc M. Intrauterine inflammation and the onset of peri-intraventricular hemorrhage in premature infants. *Biol Neonate.* 2006; 90(2):113-121. <https://doi.org/10.1159/000092070>
22. Greenberg RG, Kandefor S, Do BT, Smith PB, Stoll BJ; Bell EF et al. Late-onset sepsis in extremely premature infants: 2000-2011. *Pediatr Infect Dis J.* 2017; 36(8):774-779. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000001570>
23. Aly H, Hammad TA, Essers J, Wung JT. Is mechanical ventilation associated with intraventricular hemorrhage in preterm infants? *Brain Dev.* 2012; 34(3):201-205.
<https://doi.org/10.1016/j.braindev.2011.04.006>
24. Peter DS, Gandy C, Hoffman SB. Hypotension and adverse outcomes in prematurity: comparing definitions. *Neonatology.* 2017; 111(3):228-233.
<https://doi.org/10.1159/000452616>

25. Aziz ANA, Thomas S, Murthy P, Rabi Y, Soraisham A, Stritzke A et al. Early inotropes use is associated with higher risk of death and/or severe brain injury in extremely premature infants. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2020; 33(16):2751-2758. <https://doi.org/10.1080/14767058.2018.1560408>
26. Su B-H, Lin H-Y, Huang F-K, Tsai M-L, Huang Y-T. Circulatory management focusing on preventing intraventricular hemorrhage and pulmonary hemorrhage in preterm infants. *Pediatr Neonatol.* 2016; 57(6):453-462. <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2016.01.001>
27. Toyoshima K, Kawataki M, Ohyama M, Shibasaki J, Yamaguchi N, Hoshino R et al. Tailor-made circulatory management based on the stress-velocity relationship in preterm infants. *J Formos Med Assoc.* 2013; 112(9): 510-517. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2013.02.011>
28. Khanafer-Larocque I, Soraisham A, Stritzke A, Awad EA, Thomas S, Murthy P et al. Intraventricular hemorrhage: risk factors and association with patent ductus arteriosus treatment in extremely preterm neonates. *Front Pediatr.* 2019; 7:408. <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00408>
29. Baer VL, Lambert DK, Henry E, Snow GL, Christensen RD. Red blood cell transfusion of preterm neonates with a Grade 1 intraventricular hemorrhage is associated with extension to a Grade 3 or 4 hemorrhage. *Transfusion.* 2011; 51(9):1933-1939. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2011.03081.x>
30. Christensen RD, Baer VL, Vecchio AD, Henry E. Unique risks of red blood cell transfusions in very-low-birth-weight neonates: associations between early transfusion and intraventricular hemorrhage and between late transfusion and necrotizing enterocolitis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2013; 26(Suppl 2):60-63. <https://doi.org/10.3109/14767058.2013.830495>
31. Al-Abdi SY, Al-Aamri MA. A systematic review and meta-analysis of the timing of early intraventricular hemorrhage in preterm neonates: clinical and research implications. *J Clin Neonatol.* 2014; 3(2):76-88. <https://doi.org/10.4103/2249-4847.134674>
32. Dolfen T, Skidmore MB, Fong KW, Hoskins EM, Shennan AT. Incidence, severity, and timing of subependymal and intraventricular hemorrhages in preterm infants born in a perinatal unit as detected by serial real-time ultrasound. *Pediatrics.* 1983; 71(4):541-546. <https://doi.org/10.1542/peds.71.4.541>

6. CONCLUSÃO

A análise metabolômica do sangue dos RNPT de muito baixo peso ao nascer e com idade gestacional abaixo de 34 semanas, aos dois dias de vida, mostrou diferença na concentração sanguínea de três substâncias nos RNPT com HPIV quando comparados com os sem HPIV, sendo elas β -isorenierateno, ácido nonadiecoico e monoacilglicerol.

Ao avaliar os fatores de risco associados à ocorrência de hemorragia periventricular entre o 2º e 7º dias de vida, este estudo identificou diversos fatores como a presença de pneumotórax, a persistência do canal arterial, a necessidade de aminas vasoativas e da ventilação mecânica, reforçando a etiologia multifatorial desta patologia. Além disso, a sepse, nas análises uni e multivariada, foi definida como principal fator de risco relacionado a HPIV reforçando que o conhecimento destes fatores é particularmente importante na definição das estratégias de cuidado do RNPT afim de reduzir a incidência da HPIV.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Esta tese faz parte de uma linha de pesquisa intitulada “Desenvolvimento e avaliação de biomarcadores associados às patologias no período neonatal e implicações diagnósticas e prognósticas” do Serviço de Neonatologia do HC-UFU e Laboratório de Nanobiotecnologia do Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia. Existem outros estudos em curso dentro do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde relacionando perfil metabolômico e patologias do período neonatal.

Em relação a HPIV, os resultados deste estudo identificaram metabólitos que podem auxiliar no conhecimento de vias metabólicas importantes para o entendimento da fisiopatologia da HPIV e para o desenvolvimento de novas estratégias de prevenção e tratamento desta patologia. São necessários mais estudos para validação destes resultados.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

- ADAMS-CHAPMAN, I. et al. Neurodevelopmental outcome of extremely low birth weight infants with posthemorrhagic hydrocephalus requiring shunt insertion. **Pediatrics**, Springfield, v. 121, n. 5, p. e1167-e1177, May 2008.
<https://doi.org/10.1542/peds.2007-0423>
- AL-ABDI, S. Y.; AL-AAMRI, M. A. A systematic review and meta-analysis of the timing of early intraventricular hemorrhage in preterm neonates: clinical and research implications. **Journal of Clinical Neonatology**, Mumbai, v. 3, n. 2, p. 76-88, Apr. 2014. <https://doi.org/10.4103/2249-4847.134674>
- ALY, H. et al. T. Is mechanical ventilation associated with intraventricular hemorrhage in preterm infants? **Brain and Development**, Amsterdam, v. 34, n. 3, p. 201-205, Mar. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2011.04.006>
- ANCEL, P.-Y. et al. Survival and morbidity of preterm children born at 22 through 34 weeks' gestation in France in 2011: results of the EIPAGE-2 cohort study. **Journal of the American Medical Association Pediatrics**, Chicago, v. 169, n. 3, p. 230-238, Mar. 2015. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2014.3351>
- ARMULIK, A. et al. Pericytes regulate the blood–brain barrier. **Nature**, London, v. 468, n. 7323, p. 557-561, Nov. 2010. <https://doi.org/10.1038/nature09522>
- ARNON, S. et al. Delivery room resuscitation and adverse outcomes among very low birth weight preterm infants. **Journal of Perinatology**, New York, v. 37, n. 9, p. 1010-1016, Sept. 2017. <https://doi.org/10.1038/jp.2017.99>
- AZIZ, A. N. A. et al. Early inotropes use is associated with higher risk of death and/or severe brain injury in extremely premature infants. **The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine**, London, v. 33, n. 16, p. 2751-2758, Aug. 2020.
<https://doi.org/10.1080/14767058.2018.1560408>
- BALLABH, P. Intraventricular hemorrhage in premature infants: mechanism of disease. **Pediatric Research**, Basel, v. 67, n. 1, p. 1-8, Jan. 2010.
<https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e3181c1b176>
- BALLABH, P. Pathogenesis and prevention of intraventricular hemorrhage. **Clinics in Perinatology**, Philadelphia, v. 41, n. 1, p. 47-67, Mar. 2014.
<https://doi.org/10.1016/j.clp.2013.09.007>
- BEGER, R. D. et al. Metabonomics of acute kidney injury in children after cardiac surgery. **Pediatric Nephrology**, Berlin, v. 23, n. 6, p. 977-984, June 2008.
<https://doi.org/10.1007/s00467-008-0756-7>
- BLENCOWE, H. et al. Born too soon: the global epidemiology of 15 million preterm births. **Reproductive Health**, London, v. 10, suppl. 1, p. S2, 2013.
<https://doi.org/10.1186/1742-4755-10-S1-S2>

¹ De acordo com ABNT, NBR 6023, 2ª edição, revisada e atualizada em 14/11/2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portal da Saúde [Homepage on the Internet]. Datasus: Estatísticas vitais [cited 2021 Nov 11]. Available From:

<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sim/cnv/obt10uf.def>

BRAUN, A. et al. Paucity of pericytes in germinal matrix vasculature of premature infants. **The Journal of Neuroscience**, Baltimore, v. 27, n. 44, p. 12012-12024, Oct. 2007. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3281-07.2007>

CANUTO, G. A. B. et al. Metabolômica: definições, estado-da-arte e aplicações representativas. **Química Nova**, São Paulo, v. 41, n. 1, p. 75-91, 2018.

<https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170134>

CHRISTIAN, E. A. et al. Trends in hospitalization of preterm infants with intraventricular hemorrhage and hydrocephalus in the United States, 2000-2010. *J Neurosurg Pediatr*, **Journal of Neurosurgery: Pediatrics**, Charlottesville, v. 17, n. 3, p. 260-269, Mar. 2016. <https://doi.org/10.3171/2015.7.PEDS15140>

D'APREMONT, I. et al. Trends in perinatal practices and neonatal outcomes of very low birth weight infants during a 16-year period at NEOCOSUR Centers. **The Journal of Pediatrics**, St Louis, v. 225, p. 44-50.e1, Oct. 2020.

<https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2020.05.040>

DESSI, A. et al. Metabolomics in newborns with intrauterine growth retardation (IUGR): urine reveals markers of metabolic syndrome. **The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine**, London, v. 24, suppl. 2, p. 35-39, Oct. 2011.

<https://doi.org/10.3109/14767058.2011.605868>

DUPPRÉ, P. et al. Cellular and humoral coagulation profiles and occurrence of IVH in VLBW and ELWB infants. **Early Human Development**, Amsterdam, v. 91, n. 12, p. 695-700, Dec. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2015.09.008>

EL-KHOURY, N. et al. Astrocyte end-feet in germinal matrix, cerebral cortex, and white matter in developing infants. **Pediatric Research**, New York, v. 59, n. 5, p. 673-679, May 2006. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000214975.85311.9c>

FIEHN, O. Combining genomics, metabolome analysis, and biochemical modelling to understand metabolic networks. **Comparative and Functional Genomics**, Chichester, v. 2, n. 3, p. 155-168, 2001. <https://doi.org/10.1002/cfg.82>

HARRISON, M. S.; GOLDENBERG, R. L. Global burden of prematurity. **Seminars in Fetal and Neonatal Medicine**, Amsterdam, v. 21, n. 2, p. 74-79, Apr. 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.siny.2015.12.007>

HELWICH, E. et al. Intraventricular hemorrhage in premature infants with respiratory distress syndrome treated with surfactant: incidence and risk factors in the prospective cohort study. **Journal of Mother and Child**, Konstancin Jeziorna, v. 21, n. 4, p. 328-335, 2017.

HORBAR, J. D. et al. Mortality and neonatal morbidity among infants 501 to 1500 grams from 2000 to 2009. **Pediatrics**, Springfield, v. 129, n. 6, p. 1019-1026, June 2012. <https://doi.org/10.1542/peds.2011-3028>

HUMBERG, A. et al. Delivery mode and intraventricular hemorrhage risk in very-low-birth-weight infants: observational data of the German Neonatal Network. **European**

- Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology**, Amsterdam, v. 212, p. 144-149, May 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2017.03.032>
- IACOVIDOU, N. et al. Metabolomics applied in neonatology. **Bioanalysis**, London, v. 6, n. 3, p. 403-410, Feb. 2014. <https://doi.org/10.4155/bio.13.340>
- JIANG, Y-N. et al. Plasma metabolomics to evaluate progression of necrotising enterocolitis in preterm pigs. **Metabolites**, Basel, v. 11, n. 5, p. 283, Apr. 2021. <https://doi.org/10.3390/metabo11050283>
- KHANAFAER-LAROCQUE, I. et al. Intraventricular hemorrhage: risk factors and association with patent ductus arteriosus treatment in extremely preterm neonates. **Frontiers in Pediatrics**, Lausanne, v. 7, p. 408, Oct. 2019. <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00408>
- KLEBERMASS-SCHREHOF, K. et al. Impact of low-grade intraventricular hemorrhage on long-term neurodevelopmental outcome in preterm infants. **Child's Nervous System**, Berlin, v. 28, n. 12, p. 2085-2092, Dec. 2012. <https://doi.org/10.1007/s00381-012-1897-3>
- LEIJSER, L. M.; de VRIES, L. S.; COWAN, F. M. Using cerebral ultrasound effectively in the newborn infant. **Early Human Development**, Amsterdam, v. 82, n. 12, p. 827-835, Dec. 2006. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2006.09.018>
- MADERGAN, V. et al. Untargeted and targeted metabolomic profiling of preterm newborns with early onset sepsis: a case-control study. **Metabolites**, Basel, v. 11, n. 2, p. 115, Feb. 2021. <https://doi.org/10.3390/metabo11020115>
- MANNAN, M. A. et al. Immediate outcome of preterm neonates with respiratory distress syndrome required mechanical ventilation. **Mymensingh Medical Journal: MMJ**, Mymensingh, v. 27, n. 1, p. 130-135, Jan. 2018.
- MERCIER, C. E. et al. Neurodevelopmental outcome of extremely low birth weight infants from the Vermont Oxford network: 1998-2003. **Neonatology**, Basel, v. 97, n. 4, p. 329-338, June 2010. <https://doi.org/10.1159/000260136>
- GBD 2016 Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **Lancet**, London, v. 16, n. 10100, p. 1151-210, Sept. 2017.
- MUHLE-GOLL, C. et al. Urinary NMR profiling in pediatric acute kidney injury - a pilot study. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 21, n. 4, p. 1187, Feb. 2020. <https://doi.org/10.3390/ijms21041187>
- NOLAN, L. S. et al. Untargeted metabolomic analysis of human milk from mothers of preterm infants. **Nutrients**, Basel, v. 13, n. 10, p. 3604, Oct. 2021. <https://doi.org/10.3390/nu13103604>
- OSBORN, D. A.; EVANS, N.; KLUCKOW, M. Hemodynamic and antecedent risk factors of early and late periventricular/intraventricular hemorrhage in premature infants. **Pediatrics**, Springfield, v. 112, n. 1 Pt 1, p. 33-39, July 2003. <https://doi.org/10.1542/peds.112.1.33>

- PAPIERNIK, E. et al. Differences in outcome between twins and singletons born very preterm: results from a population-based European cohort. **Human Reproduction**, Oxford, v. 25, n. 4, p. 1035-1043, Apr. 2010. <https://doi.org/10.1093/humrep/dep430>
- PAPILE, L. A. et al. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1,500gm. **The Journal of Pediatrics**, St. Louis, v. 92, n. 4, p. 529-534, Apr. 1978. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(78\)80282-0](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(78)80282-0)
- PARODI, A. et al. Cranial ultrasound findings in preterm germinal matrix haemorrhage, sequelae and outcome. **Pediatric Research**, Basel, v. 87, suppl. 1, p. 13-24, Mar. 2020. <https://doi.org/10.1038/s41390-020-0780-2>
- PATRA, K. et al. Grades I-II intraventricular hemorrhage in extremely low birth weight infants: effects on neurodevelopment. **The Journal of Pediatrics**. St. Louis, v. 149, n. 2, p. 169-173, Aug. 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2006.04.002>
- PERSIDSKY, Y et al. Blood-brain barrier: structural components and function under physiologic and pathologic conditions. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, New York, v. 1, n. 3, p. 223-236, Sept. 2006. <https://doi.org/10.1007/s11481-006-9025-3>
- PETER, D. S.; GANDY, C.; HOFFMAN, S. B. Hypotension and adverse outcomes in prematurity: comparing definitions. **Neonatology**, Basel, v. 111, n. 3, p. 228-233, 2017. <https://doi.org/10.1159/000452616>
- PIERSIGILLI, F.; BHANDARI, V. Metabolomics of bronchopulmonary dysplasia. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 500, p. 109-114. Jan. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.09.025>
- PIÑEIRO-RAMOS, J. D. et al. Noninvasive monitoring of evolving urinary metabolic patterns in neonatal encephalopathy. **Pediatric Research**, Basel, p. 1-8, May 2021. <https://doi.org/10.1038/s41390-021-01553-z>
- PINTUS, M. C. et al. Urinary ¹H-NMR metabolomics in the first week of life can anticipate BPD diagnosis. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, Austin, v. 2018, p. 7620671, June 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/7620671>
- PORYO, M. et al. Ante-, peri- and postnatal factors associated with intraventricular hemorrhage in very premature infants. **Early Human Development**, Amsterdam, v. 116, p. 1-8, Jan. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2017.08.010>
- RAZAZ, N. et al. Trends in optimal, suboptimal, and questionably appropriate receipt of antenatal corticosteroid prophylaxis. **Obstetrics and Gynecology**, Hagerstown, v. 125, n. 2, p. 288-296, Feb. 2015. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000000629>
- RHEE, C. J. et al. Neonatal cerebrovascular autoregulation. **Pediatric Research**, Basel, v. 84, n. 5, p. 602-610, Nov. 2018. <https://doi.org/10.1038/s41390-018-0141-6>
- RHEE, C. J. et al. The ontogeny of cerebrovascular pressure autoregulation in premature infants. **Journal of Perinatology**, Philadelphia, v. 34, n. 12, p. 926-931, Dec. 2014. <https://doi.org/10.1038/jp.2014.122>
- RICHTER, L. L. et al. Temporal trends in preterm birth, neonatal mortality, and neonatal morbidity following spontaneous and clinician-initiated delivery in Canada, 2009-2016. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada**, Toronto, v. 41, n. 12, p. 1742-1751.e6, Dec. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jogc.2019.02.151>

ROBERTS, D. et al. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, Oxford, v. 3, n. 3, p. CD004454, Mar. 2017.

<https://doi.org/10.1002/14651858.CD004454.pub3>

ROMERO, R. et al. Metabolomics in premature labor: a novel approach to identify patients at risk for preterm delivery. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, London, v. 23, n. 12, p. 1344-1359, Dec. 2010.

<https://doi.org/10.3109/14767058.2010.482618>

SARAFIDIS, K. et al. Targeted urine metabolomics in preterm neonates with intraventricular hemorrhage. **Journal of Chromatography Biomedical**, Amsterdam, v. 1104, p. 240-248, Jan. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.11.024>

SIDDAPPA, A. M. et al. Predictors of severe intraventricular hemorrhage in preterm infants under 29-weeks gestation. **The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine**, London, v. 34, n. 2, p. 195-200, Jan. 2021.

<https://doi.org/10.1080/14767058.2019.1601698>

STOLL, B. J. et al. Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD neonatal research network. **Pediatrics**, Springfield, v. 126, n. 3, p. 443-456, Sept. 2010.

<https://doi.org/10.1542/peds.2009-2959>

STOLL, B. J. et al. Trends in care practices, morbidity, and mortality of extremely preterm neonates, 1993-2012. **Journal of American Medical Association**, Chicago, v. 314, n. 10, p. 1039-1051, Sept. 2015. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.10244>

SU, B-H. et al. Circulatory management focusing on preventing intraventricular hemorrhage and pulmonary hemorrhage in preterm infants. **Pediatrics and Neonatology**, Singapore, v. 57, n. 6, p. 453-462, Dec. 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2016.01.001>

SZPECHT, D. et al. Role of fibronectin-1 polymorphism genes with the pathogenesis of intraventricular hemorrhage in preterm infants. **Child's Nervous System**, Berlin, v. 36, n. 8, p. 1729-1736, Aug. 2020. <https://doi.org/10.1007/s00381-020-04598-3>

TORTORA, D. et al. The effects of mild germinal matrix-intraventricular haemorrhage on the developmental white matter microstructure of preterm neonates: a DTI study.

European Radiology, Berlin, v. 28, n. 3, p. 1157-1166, Mar. 2018.

<https://doi.org/10.1007/s00330-017-5060-0>

TOYOSHIMA, K. et al. Tailor-made circulatory management based on the stress-velocity relationship in preterm infants. **Journal of the Formosan Medical Association**, Taipei, v. 112, n. 9, p. 510-517, Sept. 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.jfma.2013.02.011>

TZOULAKI, I. et al. Design and analysis of metabolomics studies in epidemiologic research: a primer on -omic technologies. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, v. 180, n. 2, p. 129-139, July 2014. <https://doi.org/10.1093/aje/kwu143>

ULUSOY, E. et al. Thrombocytopenia in neonates: causes and outcomes. **Annals of Hematology**, Berlin, v. 92, n. 7, p. 961-967, July 2013. <https://doi.org/10.1007/s00277-013-1726-0>

van ROEKEL, E. H. et al. Metabolomics in epidemiologic research: challenges and opportunities for early-career epidemiologists. **Metabolomics**, New York, v. 15, n. 1, p. 9, Jan. 2019. <https://doi.org/10.1007/s11306-018-1468-z>

van WEZEL-MEIJLER, G.; STEGGERDA, S. J.; LEIJSER, L. M. Cranial ultrasonography in neonates: role and limitations. **Seminars in Perinatology**, Philadelphia, v. 34, n. 1, p. 28-38, Feb. 2010. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2009.10.002>

VENKATESH, K. K. et al. Association of chorioamnionitis and its duration with neonatal morbidity and mortality. **Journal of Perinatology**, Philadelphia, v. 39, n. 5, 673-682, May 2019. <https://doi.org/10.1038/s41372-019-0322-0>

VICTORA, J. D. et al. Prevalence, mortality and risk factors associated with very low birth weight preterm infants: an analysis of 33 years. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 3, p. 327-332, May-June 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jped.2018.10.011>

VILLAMOR-MARTINEZ, E. et al. Chorioamnionitis is a risk factor for intraventricular hemorrhage in preterm infants: a systematic review and meta-analysis. **Frontiers in Physiology**, Lausanne, v. 9, p. 1253, Sept. 2018. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01253>

VINUKONDA, G. et al. Effect of prenatal glucocorticoids on cerebral vasculature of the developing brain. **Stroke**, Dallas, v. 41, n. 8, p. 1766-1773, Aug. 2010. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.588400>

VOLPE, J. J. Intracranial hemorrhage: germinal matrix – intraventricular: hemorrhage of premature infant. In: VOLPE, J. J. **Neurology of the Newborn**. 5th ed. Philadelphia, PA: WB. Saunders. 2008. p. 517-573. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-3995-2.10011-1>

XU, H. et al. Maturation changes in laminin, fibronectin, collagen IV, and perlecan in germinal matrix, cortex, and white matter and effect of betamethasone. **Journal of Neuroscience Research**, New York, v. 86, n. 7, p. 1482-1500, May 2008. <https://doi.org/10.1002/jnr.21618>

WHO. World Health Organization. **Born too soon: the global action report on preterm birth**. CP Howson, MV Kinney, JE Lawn (Eds.) World Health Organization. Geneva, n. 5, p. 1-126, 2012.

ZHANG, X-H. et al. Predictive value of cranial ultrasound for neurodevelopmental outcomes of very preterm infants with brain injury. **Chinese Medical Journal**, Beijing, v. 131, n. 8, p. 920-926, Apr. 2018. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.229895>

ZHOU, Y. et al. Plasma levels of amino acids and derivatives in retinopathy of prematurity. **International Journal of Medical Sciences**, Blue Haven, v. 18, n. 15, p. 3581-3587, Aug. 2021. <https://doi.org/10.7150/ijms.63603>

APENDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezada senhora, o(a) menor (a), pelo qual a senhora é responsável, está sendo convidado(a) a participar da pesquisa intitulada “**Avaliação de biomarcadores no período neonatal**”, sob a responsabilidade dos pesquisadores: Profa. Dra. Vânia Olivetti Steffen Abdallah, Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart, Daniela Marques de L. M. Ferreira, Patrícia Terra Alves, Lídia Mayrink de Barros, Heloísio dos Reis, Aive Oliva Santos, Maria Carolina Martins, Daniela Silva Rodrigues da Costa, Andréia de Albuquerque Freitas, Angela Maria Oliveira e Larissa Prado Maia.

Nesta pesquisa nós estamos buscando novos exames que possam nos mostrar mais precocemente se o bebê recém-nascido está com infecção.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será obtido por um destes pesquisadores: Daniela Marques de L. M. Ferreira, Lídia Mayrink de Barros, Maria Carolina Martins, Daniela Silva Rodrigues da Costa ou Andréia de Albuquerque Freitas, após o nascimento do seu bebê, durante a sua internação hospitalar na Maternidade do Hospital das Clínicas da UFU.

A participação do(a) seu(sua) filho (o) será autorizando a utilização de uma amostra do sangue e urina dele que já é colhido para exames de rotina referentes aos cuidados médicos. Se o seu filho tiver nascido prematuro e adoecer com suspeita que esteja com infecção será autorizando também a utilização de uma amostra do líquido e secreção traqueal (que apenas será colhido para fazer o diagnóstico desta infecção, se houver necessidade, por decisão da equipe médica que está cuidando do seu bebê). Em nenhum momento o(a) menor será identificado(a). Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim a identidade dele(a) será preservada.

O(A) menor não terá nenhum gasto ou ganho financeiro por participar na pesquisa.

Os riscos consistem no incômodo que ele(a) poderá sentir com a coleta do sangue e urina, porém estes materiais já serão coletados rotineiramente para os cuidados dele(a) durante a internação e no incômodo que ele(a) poderá sentir com a coleta de secreção traqueal e líquido, que também serão colhidos rotineiramente no caso dele ter suspeita de infecção. Os benefícios que haverão, mesmo que não diretamente, são o avanço no diagnóstico mais cedo das infecções nos bebês possibilitando início do tratamento mais rápido e contribuindo para diminuir a mortalidade dos bebês.

O(A) menor é livre para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem nenhum prejuízo ou coação. Sempre que desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo.

Uma via original deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com a senhora.

Se houver qualquer dúvida a respeito da pesquisa, você poderá entrar em contato com os

pesquisadores Profa. Dra. Vânia Olivetti Steffen Abdallah, Dra. Daniela Marques de L. M. Ferreira, Lídia Mayrink de Barros, Maria Carolina Martins, Daniela Silva Rodrigues da Costa ou Andréia de Albuquerque Freitas - Hospital das Clínicas, Serviço de Neonatologia - Av. Pará, 1720. Bairro Umuarama - Telefones: 3218-2112 / 3218-2454.

Poderá também entrar em contato com o Comitê de Ética na Pesquisa com Seres Humanos – Universidade Federal de Uberlândia – Av. João Naves de Ávila, 2121 bloco A, sala 224, Campus Santa Mônica – Uberlândia – MG – CEP: 38408-100 – Telefone: 3239-4131.

Uberlândia, de de 20....

Assinatura dos pesquisadores

Eu, responsável legal pelo(a) menor _____ consinto na participação dele no projeto citado acima, após ter sido devidamente esclarecida.

Responsável pelo(a) menor participante da pesquisa

APENDICE B - INSTRUMENTO PARA COLETA DE DADOS

No. sujeito pesquisa: _____ **Prontuário mãe:** _____ **Prontuário RN:** _____

1. DADOS MATERNOS	
Idade	Estado Civil: () solteira () casada () amasiada () viúva () divorciada
Escolaridade: () 1a 3 anos () 4 a 7 anos () 8 a 11 anos () 12 ou + () ignorado	Paridade: G ___ P ___ A ___
No. de consultas de pré-natal	Tipo de parto:
Corticóide antenatal () Sim () Não Qual:	Idade gestacional: Número de doses:
ITU: () não () sim Quando:	Pré-eclampsia : () não () sim
Anomalia congênita : () não () sim. Qual:	Corioamnionite : () não () sim
TPP : () não () sim	Diabete melito : () não () sim
Sofrimento fetal agudo : () não () sim	Oligodramnio : () não () sim
Drogas ilícitas : () não () sim	DPP : () não () sim
TORCHS () não () sim IG: Qual: Tratamento:	Sulfato de Mg (neuroproteção): () não () sim
Pesquisa estrepto: () não () sim	
Uso de ATB : () não () sim Quando () 1º trim. () 2º trim. () 3º trim () 48 horas antes parto Qual ATB? _____	Rotura prematura das membranas : () não () sim Quanto tempo:

DADOS DO RECÉM-NASCIDO

Data do Nascimento: ____/____/____ Hora: ____: ____	Idade gestacional: DUM _____ Clínica _____ USG (1º. TRI): _____
Peso de Nascimento:	Sexo: () M () F () Indeterminado
Apgar: 1'- 5' 10'	Classificação: () PIG () AIG () GIG
Reanimação na sala de parto: VPP com balão e máscara () Sim () Não ____ Ciclos VPP com balão e cânula () Sim () Não ____ Ciclos	IOT () Sim () Não Massagem cardíaca () Sim () Não ____ Ciclos Drogas () Sim () Não Qual (is): _____ _____
Temperatura: Mãe: _____ RN: Sala de parto: _____ Admissão: _____ 2h vida: _____	RCIU : () Sim () Não
SDR () Sim () Não	Surfactante () Sim () Não Idade:
Drogas vasoativas () sim () não. Qual: _____	PCA () Sim () Não Data: Tratamento:
Pneumotórax () Sim () Não Data:	Convulsão () Sim () Não Data:
Sepse () Sim () Não Data:	ECN () Sim () Não Data:
Dist. hemorrágicos () Sim () Não Data:	Plaquetopenia () Sim () Não Data: Valor: _____
EXT () Sim () Não Data:	Cirurgia () Sim () Não Qual: Data:
Suporte ventilatório: () Sim () Não CPAP nasal (tempo): VNI (tempo):	Suporte ventilatório: () Sim () Não VM (tempo):
Oxigênio (displasia broncopulmonar): IG corrigida 36 sem: () Sim () Não 56 dias de vida: () Sim () Não	Hemotransfusão: () Sim () Não Idade: Hemocomponente: _____ _____

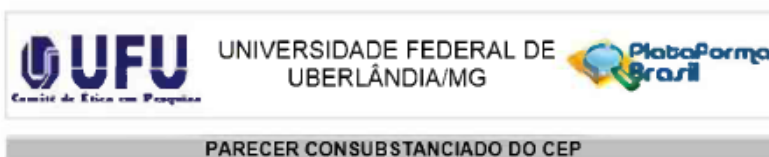
Dispositivos: PICC ____ dias	SVD ____ dias
Cat. Umb. () não () sim (arterial, venoso) ____ dias	NPP ____ dias
	CVC ____ dias Drenos ____ dia
ROP: () Sim () Não	

DADOS USG TRANSFONTANELA		
Data:	Idade:	Resultado:
Data:	Idade:	Resultado:

Resultado de culturas		
Data:	Idade:	Resultado:
Data:	Idade:	Resultado:
Data:	Idade:	Resultado:
Data:	Idade:	Resultado:

Uso de ATB	
ATB	Tempo:
ATB	Tempo:
ATB	Tempo:

ANEXO 1 – PARECER DO COMITE DE ETICA EM PESQUISA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA



DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Desenvolvimento e Avaliação de Biomarcadores Associados à Patologias no Período Neonatal e Implicações Diagnósticas e Prognósticas

Pesquisador: VÂNIA OLIVETTI STEFFEN ABDALLAH

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 36471314.5.0000.5152

Instituição Proponente: Universidade Federal de Uberlândia/ UFU/ MG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 974.356

Data da Relatoria: 18/12/2014

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O CEP/UFU, considera que as pendências foram respondidas de maneira clara e adequada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os itens foram apresentados.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências apontadas no parecer 887.483 foram atendidas.

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12, o CEP manifesta-se pela aprovação do protocolo de pesquisa proposto.

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com seres humanos, nos limites da redação e da metodologia apresentadas.

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Av. João Naves de Ávila 2121- Bloco "1A", sala 224 - Campus Sta. Mônica
Bairro: Santa Mônica **CEP:** 38.408-144
UF: MG **Município:** UBERLÂNDIA
Telefone: (34)3239-4131 **Fax:** (34)3239-4335 **E-mail:** cep@propp.ufu.br