
PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PEDIATRIA
DOUTORADO EM PEDIATRIA

Corioamnionite e Desenvolvimento
Pulmonar em Pré-Termos

Andréa Lúcia Corso

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de
Medicina da PUCRS para obtenção do título de
Doutor em Medicina, concentração em Pediatria.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Herbert Jones

Porto Alegre, Janeiro 2009

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

C826c Corso, Andréa Lúcia
Corioamnionite e desenvolvimento pulmonar em pré-termos /
Andréa Lúcia Corso. Porto Alegre: PUCRS, 2009.

xvi, 118 f.: il. graf. tab.

Orientação: Prof. Dr. Marcus Herbert Jones.

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

1. CORIOAMNIONITE. 2. PULMÃO/fisiopatologia. 3. TESTES DE FUNÇÃO RESPIRATÓRIA. 4. PULMÃO/crescimento & desenvolvimento. 5. PREMATURO. 6. ESTUDOS DE COORTES. 7. ESTUDOS PROSPECTIVOS. I. Jones, Marcus Herbert. II. Título.

C.D.D. 618.32
C.D.U. 618.36:616-002(043.2)
N.L.M. WV 271

Rosária Maria Lúcia Prena Geremia
Bibliotecária CRB 10/196

DOUTORANDA: ANDRÉA LÚCIA CORSO

ENDEREÇO: RUA SILVA JARDIM, 757/203 – PORTO ALEGRE/RS

FONE: (51) 3388-3719 / (51) 99768081

E-MAIL: andrea.lucia@terra.com.br

CRM-RS: 22553

ÓRGÃOS FINANCIADORES: FAPERGS/CAPES/CNPQ

CONFLITO DE INTERESSE: NENHUM

Dedicatória

*Aos pacientes por terem emprestado um pouco de si para a
realização desse trabalho, minha gratidão maior.*

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Agradeço imensamente ao meu orientador Prof. Dr. Marcus Herbert Jones que, pela sua competência, conhecimento, disponibilidade e dedicação à pesquisa, possibilitou a realização desse projeto. Agradeço pela amizade, dedicação e acolhimento durante todos esses anos.

AGRADECIMENTOS

Aos Drs. Daniele Scouto, Fabíola Martins, Rúbia e Rodrigo, pela grande ajuda na coleta das amostras e seu processamento.

À Dra. Maria Isabel Albano Edelweiss, pela disponibilidade em participar do estudo e pela análise histológica do material.

À minha família, pelo apoio incondicional de sempre, oferecendo ajuda em todos os momentos dessa jornada.

À Dra. Denise Cantarelli Machado, pela orientação e acompanhamento no processamento e estocagem das amostras.

Aos Drs. Paulo Márcio Pitrez e Renato T. Stein, excelentes pesquisadores, que também me acompanharam de perto durante essa trajetória, agradeço pelo apoio e estímulo constante.

Aos Drs. Luciane, Mara Rúbia, Gustavo e Tiago, pela ajuda na realização dos testes de função pulmonar.

À equipe da CTI-Neonatal, em especial ao Prof. Dr. Renato Machado Fiori, pela confiança depositada ao longo desses anos em que estive acompanhando pacientes internados na CTI Neonatal.

À FAPERGS, CAPES e ao CNPQ, pelo financiamento desse projeto.

Aos médicos, enfermeiros e técnicos em enfermagem do centro obstétrico, pelo auxílio na coleta do material.

À colega e amiga Dra. Luciana Friedrich, pelo auxílio durante os testes de função pulmonar e constante apoio durante todo o trabalho.

E, finalmente, agradeço muito à Ana, por sua disponibilidade em ajudar-nos na busca dos pacientes para os testes de função pulmonar.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE SIGLAS	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi

CAPÍTULO I

1 REFERENCIAL TEÓRICO	2
1.1 Introdução	2
1.2 Desenvolvimento intrauterino do sistema respiratório	3
1.3 Infecção e inflamação intrauterina	4
1.3.1 Mecanismos do nascimento prematuro devido à infecção	5
1.3.2 Agentes infecciosos	6
1.3.3 Corioamnionite	7
1.3.4 Funisite	9
1.4 Displasia broncopulmonar	10
1.4.1 Corioamnionite e DBP	13
1.5 Citocinas na infecção/inflamação intraútero e pulmão imaturo	13
1.6 Infecção antenatal e inflamação/dano pulmonar no recém-nascido	16
1.7 Desenvolvimento e prognóstico pulmonar em pré-termos	20

2 JUSTIFICATIVA.....	26
3 OBJETIVO.....	27
4 BIBLIOGRAFIA.....	28

CAPÍTULO II

5 MÉTODOS	51
5.1 Delineamento.....	51
5.2 Locais de realização	51
5.3 Pacientes.....	52
5.3.1 Critérios de inclusão	52
5.3.2 Critérios de exclusão	52
5.4 Variáveis do estudo	52
5.4.1 Operacionalização das variáveis	54
5.5 Obtenção das amostras do estudo.....	56
5.5.1 Placenta, cordão umbilical e membranas	56
5.6 Seguimento clínico dos pacientes.....	58
5.7 Realização dos testes de função pulmonar pela Técnica da Compressão Torácica Rápida	58
5.7.1 Preparo do paciente.....	59
5.7.2 Equipamento	60

5.7.2.1 Sistema de aquisição e registro de dados.....	60
5.7.2.2 Sistema de Inflação Pulmonar	61
5.7.2.3 Sistema de Compressão Torácica Rápida.....	62
5.7.3 Manobras expiratórias forçadas.....	64
5.7.4 Variáveis estudadas no teste de função pulmonar	65
5.8 Análise estatística.....	67
5.9 Ética.....	68
6 BIBLIOGRAFIA.....	69

CAPÍTULO III

7 ARTIGO ORIGINAL.....	72
<i>Abstract.....</i>	<i>74</i>
<i>Indroduction.....</i>	<i>75</i>
<i>Material and Methods</i>	<i>77</i>
<i>Results.....</i>	<i>80</i>
<i>Discussion.....</i>	<i>84</i>
<i>References.....</i>	<i>94</i>
<i>Online data supplement.....</i>	<i>99</i>

CAPITULO IV

CONCLUSÕES.....	109
------------------------	------------

ANEXOS

ANEXO 1 –Protocolo de registro de dados.....	111
ANEXO 2 –Acompanhamento ambulatorial.....	113
ANEXO 3 - Macroscopia	114
ANEXO 4 - Microscopia.....	116
ANEXO 5 –Termo de consentimento informado.....	118

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1 - Possível sequência de eventos na evolução da DBP	12
--	----

CAPÍTULO II

Figura 2 - Micrótomo Leica SM 2000R.....	58
Figura 3 - Processador de tecidos Leica Modelo TP 1020	58
Figura 4 - Sistema de Aquisição de Sinais e Registro	62
Figura 5 - Sistema de Inflação Pulmonar e Compressão Torácica	65

CAPÍTULO III

Figure 1 - Lung function test, presented as Z Scores, by birth weight class in 105 preterm infants.....	93
---	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO III

Table 1 – Characteristics of the subjects	91
Table 2 – Antropometric data and lung function on test date	92
Table 3 – Effect of histologic chorioamnionitis in lung function variables stratified by gender	93

LISTA DE SIGLAS

BPD	<i>Bronchopulmonary dysplasia</i>
CO	Centro obstétrico
CPAP	<i>Continuous positive airway pressure</i>
CPT	Capacidade pulmonar total
CRF	Capacidade residual funcional
CVF	Capacidade vital forçada
DBP	Displasia broncopulmonar
DMH	Doença da membrana hialina
DPC	Doença pulmonar crônica
FEF₅₀/FEF₇₅/FEF₈₅	Fluxo expiratório forçado a 50, 75 ou 85% da CVF
FEF₂₅₋₇₅	Fluxo expiratório forçado entre 25 e 75% da CVF
FiO₂	Fração inspirada de oxigênio
FIRS	<i>Fetal inflammatory response syndrome</i>
G	Gramas
HCA	<i>Histologic chorioamnionitis</i>
HSL	Hospital São Lucas
IG	Idade gestacional
IL	Interleucina
IUGR	<i>Intrauterine growth retardation</i>
LA	Líquido amniótico

LTB₄	Leukotrieno B ₄
MIP	<i>Macrophage inflammatory protein</i>
MEFP	Manobras expiratórias forçadas parciais
NICU	<i>Neonatal intensive care unit</i>
PAF	<i>Platelet-activating factor</i>
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PDGF	<i>Platelet-derived growth factor</i>
PG_s	Prostaglandinas
PUCRS	Pontificia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
RN(s)	Recém-nascido(s)
RDS	<i>Respiratory distress syndrome</i>
RV-RTC	<i>Raised Volume-Rapid Thoracic Compression Technique</i>
TGF	<i>Transforming growth factor</i>
TNF-α	<i>Tumor necrosis factor-α</i>
UTIN	Unidade de terapia intensiva neonatal
VEF_{0,5}/FEV_{0,5}	Volume expiratório forçado em 0,5 segundo
VM	Ventilação mecânica

RESUMO

Objetivo: Analisar a associação entre corioamnionite histológica e função pulmonar em RNs pré-termo nos primeiros meses de vida.

Tipo de estudo: Estudo de coorte prospectivo

Pacientes e Métodos: Foram recrutados recém-nascidos pré-termo (<37 semanas de idade gestacional). Placenta e membranas foram coletadas ao nascimento e avaliadas para corioamnionite histológica. Os testes de função pulmonar foram realizados nos primeiros meses de vida, através da Técnica da Compressão Torácica Rápida.

Resultados: Cento e setenta e um RNs pré-termo foram incluídos no estudo. Placenta e membranas foram coletadas em 161 pacientes. Noventa e seis pacientes foram avaliados para corioamnionite histológica e realizaram o teste de função pulmonar. Encontramos uma associação significativa entre corioamnionite e DBP (Qui-quadrado 6.708, $p=0.005$) e ventilação mecânica (Qui-quadrado 4.414, $p=0.027$). Os lactentes pré-termo apresentaram redução significativa nos fluxos expiratórios forçados, com volumes pulmonares normais. O sexo masculino e a prematuridade estiveram significativamente associados à redução de fluxos expiratórios. Corioamnionite histológica foi significativamente associada a fluxos expiratórios reduzidos nos pré-termos do sexo feminino ($p<0.05$ para FEF_{50} , FEF_{75} , FEF_{25-75} e $VEF_{0.5}$).

Conclusões: Encontramos um aumento significativo de DBP nos RNs pré-termo expostos à corioamnionite. Além disso, nossos dados sugerem uma redução nos fluxos expiratórios máximos em pré-termos femininos expostos à corioamnionite, efeito esse não observado no sexo masculino. Estes resultados sugerem um efeito seletivo negativo de inflamação no desenvolvimento pulmonar em RNs pré-termo do sexo feminino. Este estudo confirma, em parte, as associações previamente descritas entre corioamnionite e DBP.

Descritores: Corioamnionite; função pulmonar; prematuridade; crescimento pulmonar.

ABSTRACT

Objective: To analyze the association between histologically-diagnosed chorioamnionitis (HCA) and lung function measured in the first months of life for infants born before term.

Patients and methods: Premature infants (aged less than 37 weeks of gestation) were recruited. Placenta and membranes were collected during delivery and evaluated for HCA. Lung function was performed in the first months of life by the Raised Volume-Rapid Thoracic Compression Technique (RV-RTC).

Results: One hundred seventy one premature infants were enrolled in this study. Placenta and membranes were successfully collected in 161 subjects. 96 infants had both lung function tests and histologic assessment of chorioamnionitis. There was a significant association between HCA and BPD (Chi-square 6.708, $p=0.005$), and mechanical ventilation (Chi-square 4.414, $p=0.027$). There was a significant reduction in expiratory flows in the overall tested premature infants, with FVC values within the normal range. Lower lung function was associated with male sex and prematurity. HCA was significantly associated with lower expiratory flows among female preterm infants. ($p<0.05$ for FEF_{50} , FEF_{75} , FEF_{25-75} and $FEV_{0.5}$)

Conclusions: There were significantly more subjects with BPD among preterm infants diagnosed with HCA when compared to those without signs of infection. Moreover, our data shows a reduction in maximal expiratory flows in female preterm infants exposed to HCA, an effect not observed in males. These results imply a gender-specific negative effect of inflammation on the development of the lung of these females. This study confirms and expands the concept of a previously described association between chorioamnionitis and early life chronic lung disease.

Key words: Chorioamnionitis; lung function; prematurity; lung growth

CAPÍTULO I

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Introdução

O nascimento prematuro continua sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade perinatal [1-3] e ocorre em cerca de 12% das gestações. [2, 4] A inflamação intrauterina materna em resposta à infecção bacteriana ascendente é considerada a causa mais comum de nascimento prematuro, principalmente naqueles com idade gestacional inferior a 30 semanas, e tem sido reconhecida como um importante fator no desenvolvimento de sequelas a longo prazo no recém-nascido (RN), como a displasia broncopulmonar (DBP) e a paralisia cerebral. [1, 2, 5-14] A DBP é a principal complicação respiratória do RN pré-termo [2, 5, 13, 15, 16] e a sua incidência não tem diminuído, apesar dos avanços nos cuidados perinatais. [17]

1.2 Desenvolvimento intrauterino do sistema respiratório

O sistema respiratório passa por importantes alterações estruturais no decorrer de seu desenvolvimento intrauterino. [18] As vias aéreas têm sua formação completa em uma fase bastante precoce, em torno das 16 semanas de idade gestacional, durante o estágio pseudoglandular do desenvolvimento pulmonar fetal. Entre a 16ª e a 24ª semana, no estágio canalicular, estas estruturas condutoras têm seu calibre aumentado, e no estágio sacular, entre 24 e 36 semanas, as vias aéreas pré-acinares crescem, os bronquíolos se desenvolvem e os ácinos são formados. O crescimento das vias aéreas prossegue após o nascimento, tendo seu diâmetro dobrado e seu comprimento triplicado até a idade adulta.

O processo de alveolarização, por outro lado, inicia-se aproximadamente em torno da 32ª semana de gestação e ocorre paralelamente com o desenvolvimento da microvascular pulmonar. [19, 20] A alveolarização prossegue desenvolvendo-se até os 18 meses de idade pós-natal. [21]

Levando-se em consideração este padrão de desenvolvimento, é naturalmente esperado que fatores pré-natais e pós-natais precoces exerçam efeitos importantes sobre o crescimento pulmonar posterior. Sabe-se que qualquer estágio do desenvolvimento do sistema respiratório pode ser suscetível a danos por diversos mecanismos, acarretando, assim, um risco de modificação do seu padrão normal de desenvolvimento. [21]

Vários fatores têm sido descritos como capazes de afetar o sistema pulmonar imaturo de recém-nascidos pré-termo, podendo alterar, assim, o desenvolvimento das

vias respiratórias, a alveolarização e a formação da microvasculatura pulmonar. No entanto, é difícil diferenciar os danos pulmonares decorrentes da prematuridade, isoladamente, daqueles secundários às infecções pré e pós-natais e às intervenções ventilatórias sofridas no período neonatal. Por outro lado, há estudos recentes mostrando que o processo infeccioso/inflamatório iniciado intraútero pode afetar diretamente o padrão normal de desenvolvimento pulmonar, acarretando simplificação na alveolarização e alterações na sua microvasculatura. [22, 23]

1.3 Infecção e inflamação intrauterina

A infecção intrauterina é uma das mais importantes e frequentes causas de nascimento pré-termo. [3] Sabe-se que, em acima de 80% dos nascimentos com idade gestacional abaixo de 28 semanas e em cerca de 48% dos recém-nascidos pré-termo, existem evidências de infecção intrauterina materna associada. [1, 2] Entretanto, esta é frequentemente subclínica [24] e comumente assintomática até o início do trabalho de parto ou ruptura das membranas. A sua detecção durante a gestação somente pode ser realizada através da coleta de amostras de líquido amniótico ou de sangue fetal, e ambos os procedimentos são invasivos e oferecem riscos. [25]

A invasão microbiana do fluido amniótico leva ao recrutamento de leucócitos e à produção de citocinas [2, 26, 27] promovendo a ativação de neutrófilos e a liberação de prostaglandinas, estimulando a contração uterina. [1, 2] O processo inflamatório

intrauterino inicia-se com a migração e a infiltração de neutrófilos maternos na placenta e membranas [2] e representa um fator de risco independente para nascimento prematuro, para resposta inflamatória fetal e desfecho adverso neonatal, independente da presença ou não de cultura positiva. [28]

Mesmo na presença de membranas intactas, [29] os patógenos podem invadir o espaço entre o tecido materno e as membranas fetais (espaço cório-decidual), as membranas fetais (âmnio e cório), a placenta, o líquido amniótico, o cordão umbilical e o próprio feto. Dependendo da localização da infecção, são empregados determinados termos: “amnionite”, relacionado ao líquido amniótico; “corioamnionite”, às membranas fetais córion e âmnio; “funisite”, ao cordão umbilical; e “vilite”, à placenta. [1]

Há sólidas evidências da associação entre invasão microbiana da cavidade amniótica, infecção fetal e inflamação fetal sistêmica. [28]

1.3.1. Mecanismos do nascimento prematuro devido à infecção

A invasão bacteriana do espaço cório-decidual, através da liberação de endotoxinas e exotoxinas, ativa a decídua e as membranas fetais a produzir citocinas, incluindo TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-6 e IL-8, além de fator estimulante de colônia de granulócitos. [1, 30, 31] Posteriormente, citocinas, exotoxinas e endotoxinas estimulam a síntese de prostaglaninas e a ativação, liberação, quimiotaxia e infiltração de neutrófilos, culminando na síntese e na liberação de metaloproteases e outras

substâncias bioativas. As prostaglandinas estimulam a contração uterina enquanto as metalloproteases atacam as membranas corioamnióticas causando a sua ruptura. As metalloproteases também proporcionam remodelamento do colágeno da cérvix uterina, o que ocasiona sua dilatação.

O feto exposto à infecção aumenta sua produção endógena de cortisol, levando a um aumento nas concentrações de prostaglandinas. [1, 32]

1.3.2 Agentes infecciosos

Os microorganismos frequentemente responsáveis por infecção intrauterina são provenientes da flora cervicovaginal, via ascendente, sendo o *Ureaplasma urealyticum* o mais comumente encontrado. Entretanto, há outros patógenos envolvidos, como *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* e outros anaeróbios. [2, 33] Outras vias de infecção intrauterina menos comuns incluem a migração dos patógenos a partir da cavidade abdominal através das trompas de Falópio, a disseminação hematogênica através da placenta ou a contaminação inadvertida através de amniocentese. [23]

Quando presentes no fluido amniótico, os microorganismos podem ter acesso ao feto através de vários pontos de entrada, como o trato respiratório, [2, 5, 34, 35] pele, [2, 34] trato gastrointestinal [35, 36] e ouvido. [2, 37] Testes como PCR (reação em cadeia da polimerase) têm sido utilizados para identificá-los [38, 39] no LA.

Embora o *Ureaplasma urealyticum* seja um organismo comensal do trato genital de mulheres adultas, existem fortes evidências clínicas e experimentais de que ele possa causar doença invasiva no neonato pré-termo. O *Ureaplasma urealyticum* é o microrganismo mais comum isolado no líquido amniótico obtido de mulheres em trabalho de parto prematuro com membranas íntegras ou rotas prematuramente. [40] Ele é também o microrganismo mais frequentemente associado com corioamnionite. [15]

A presença do *Ureaplasma urealyticum* como o único agente infeccioso isolado no trato genital superior está significativamente associada com resultados gestacionais e perinatais adversos, como parto prematuro, corioamnionite e morte perinatal.

O *Ureaplasma urealyticum* tem sido isolado no sangue, líquido, aspirado traqueal e tecido pulmonar de recém-nascidos, e a sua colonização no trato respiratório dos RNs tem sido associada à alta incidência de pneumonia, falência respiratória severa associada à morte e alterações radiográficas precoces de doença pulmonar crônica. [41-46] Também demonstrou-se a presença de várias citocinas nas vias aéreas de RNs colonizados com *Ureaplasma urealyticum*. [47]

1.3.3 Corioamnionite

A corioamnionite é a inflamação das membranas fetais em resposta à infecção intrauterina. [48] Representa um fator de risco para nascimento prematuro e está

associada com a maioria dos nascimentos de RNs pré-termo com menos de 30 semanas de idade gestacional. [1, 49, 50]

A prevalência de corioamnionite (identificada histologicamente) em RNs prematuros tem sido descrita em torno de 33% [51, 52] e chega a 50-70% naqueles nascidos com extremo baixo peso (<1000 g).

Steel e cols [53] observaram que, na corioamnionite, as células infiltrantes nas membranas fetais são de origem materna (os neutrófilos migram a partir dos vasos deciduais e/ou espaço intervilosos), sugerindo uma resposta inflamatória inicialmente materna. Essa resposta inflamatória materna pode progredir para uma resposta inflamatória fetal em alguns casos, [52, 54, 55] dependendo da maturidade do sistema imune fetal e da idade gestacional. [39]

Estudos mostram que fetos expostos à corioamnionite e a citocinas inflamatórias no líquido amniótico apresentam uma resposta inflamatória em seus pulmões e têm risco aumentado para o desenvolvimento de DBP. [5, 7, 15, 56-58] Os mecanismos pelos quais a corioamnionite induz inflamação pulmonar afetando a alveolarização e a angiogênese pulmonar em pré-termos não estão completamente elucidados. [57]

A presença de corioamnionite com resposta inflamatória materna e fetal está significativamente associada com maior morbidade e mortalidade neonatal se comparada com somente a presença de resposta inflamatória materna, [52] e parece ser mais importante na gênese da doença pulmonar crônica da prematuridade (DPC). [2, 59]

1.3.4 Funisite

A funisite é o primeiro estágio da resposta fetal e caracteriza-se por um infiltrado perivascular de células inflamatórias (neutrófilos de origem fetal) nos vasos umbilicais, acometendo inicialmente a veia, com progressão para as artérias. A funisite e a vasculite coriônica são as marcas histopatológicas da síndrome da resposta inflamatória fetal (FIRS). [2, 33, 46, 60-62] A FIRS é caracterizada por envolvimento fetal multissistêmico e foi inicialmente definida pela presença de elevadas concentrações de IL-6 (>11 pg/mL) no plasma fetal. [14, 63] Recentemente, devido à associação encontrada entre elevados níveis de IL-6 no plasma fetal e funisite, a definição de FIRS foi expandida, englobando a presença de elevados níveis de IL-6 no plasma fetal e/ou funisite. [64]

Estudos mostram que fetos expostos à FIRS têm risco aumentado para sepse neonatal, pneumonia, hemorragia intraventricular e sequelas a longo prazo como DBP e paralisia cerebral. [10, 33, 62, 65] [66]

Além disso, um aumento nas concentrações de citocinas pró-inflamatórias no líquido amniótico e sangue de cordão fetal (indicativo de FIRS durante corioamnionite) representam um fator de risco independente para o desenvolvimento de DBP. [7, 14, 67] Níveis elevados de IL-6 encontrados em sangue de cordão umbilical, como uma marca da síndrome da resposta inflamatória, aparecem como um fator de risco para DBP. [13, 65]

1.4 Displasia broncopulmonar

A DBP constitui a complicação respiratória mais comum em recém-nascidos pré-termo. [68, 69] Alguns desses pacientes apresentam doença pulmonar grave, necessitando ventilação mecânica e/ou suplementação de oxigênio por meses ou anos. [70] Estas crianças são mais suscetíveis a doenças respiratórias durante a infância, como hiperresponsividade das vias aéreas e infecções respiratórias de repetição, com risco maior de hospitalizações nos primeiros 2 anos de vida. [71] Outros problemas desses pacientes durante a infância e a vida adulta incluem intolerância ao exercício, risco aumentado para asma, hipertensão pulmonar, enfisema e doença pulmonar obstrutiva crônica, além de prejuízo no neurodesenvolvimento. [72]

A DBP é definida como dependência de oxigênio aos 28 dias de idade pós-natal [73] (com alterações radiológicas características), ou dependência de oxigênio suplementar com 36 semanas de idade gestacional pós-concepcional, [74] sendo que a segunda definição parece predizer melhor o prognóstico pulmonar desses bebês a longo prazo. [74]

A incidência de DBP varia de acordo com os centros e as definições utilizadas, ocorrendo em cerca de 51% dos RNs com peso de nascimento entre 501 a 750 gramas (G) e em 35% daqueles com peso entre 751 a 1000 G ao nascer. [2, 75] Observa-se atualmente que sua incidência vem aumentando a despeito da melhora dos cuidados neonatais. [2]

A forma clássica descrita de DBP por Northway e cols, em 1967, caracteriza-se pela presença de doença da membrana hialina (DMH) severa necessitando tratamento com elevados níveis de oxigênio inspirado e ventilação mecânica prolongada. [76] Atualmente, a chamada “nova DBP” é a forma mais comum encontrada, devido aos avanços recentes na prevenção e tratamento da DMH. Esta nova forma de DBP geralmente ocorre naqueles prematuros extremos e em recém-nascidos que apresentaram formas leves de DMH. [65] Existe também, um grupo de RNs de muito baixo peso (<1.500 g) que desenvolvem DBP sem apresentarem DMH ao nascimento. Esses bebês necessitam de suporte ventilatório e oxigênio e alguns deles foram expostos à corioamnionite. [77]

A DBP em RNs prematuros extremos está associada a um atraso no desenvolvimento pulmonar no estágio sacular, caracterizado por decréscimo no desenvolvimento microvascular pulmonar e diminuição da alveolarização. [72, 78, 79]

Os principais fatores de risco para o desenvolvimento de DBP são imaturidade pulmonar, toxicidade ao oxigênio, barotrauma e volutrauma, início e duração da ventilação mecânica, infecção pré e pós-natal e aumento do fluxo sanguíneo pulmonar secundário à persistência do canal arterial. [56] Como visto, a patogênese da DBP é multifatorial, mas a infecção antenatal parece ter um papel específico no desencadeamento do processo inflamatório pulmonar fetal. [5] A corioamnionite não somente induz ao nascimento prematuro mas também à inflamação no pulmão fetal, levando a dano pulmonar antes do nascimento, predispondo ao desenvolvimento de DBP. [5]

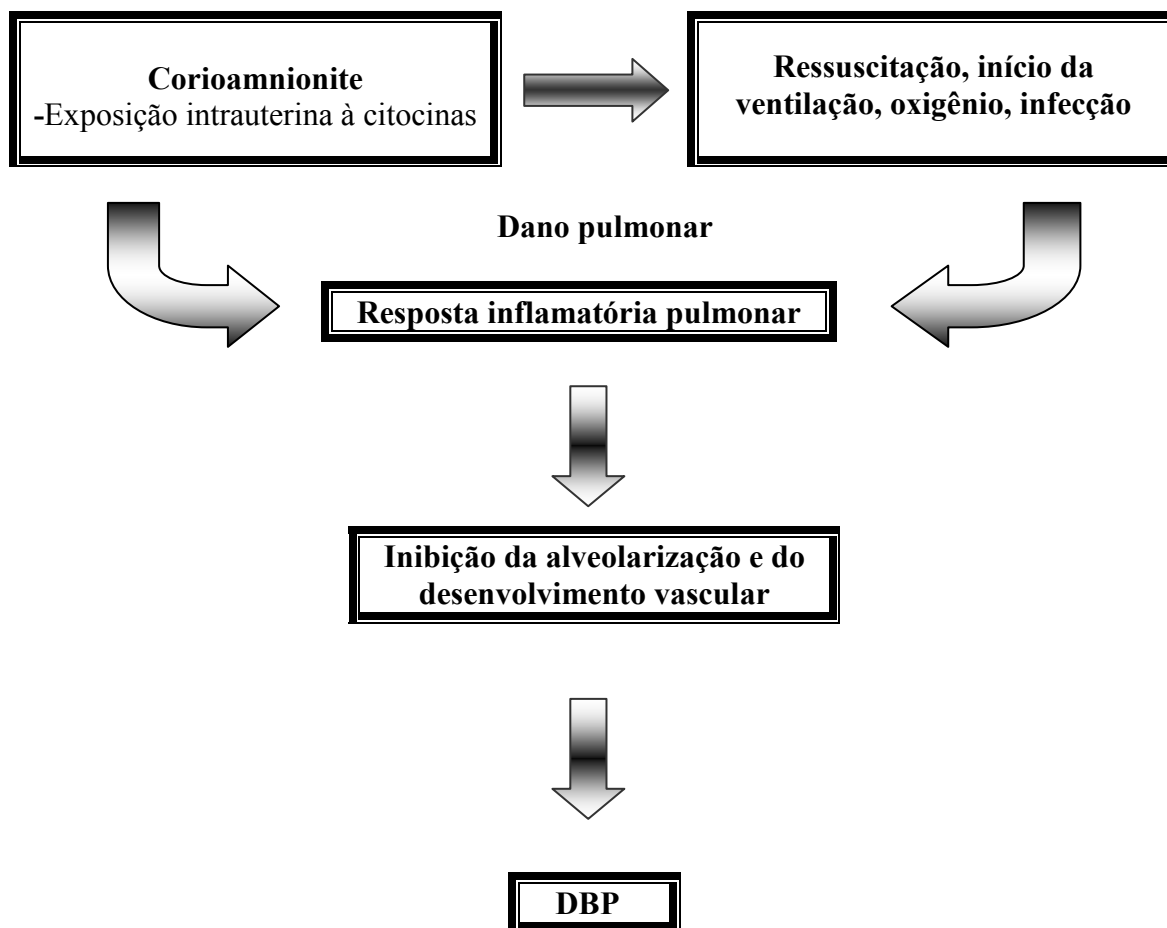


Figura 1- Possível sequência de eventos na evolução da DBP.[56]

Não se sabe ao certo quais mediadores interferem no desenvolvimento pulmonar. Entretanto, existem informações em modelos animais de que mediadores inflamatórios podem interferir na alveolarização pós-natal. Um aumento nas concentrações de TNF- α , TGF- α , IL-6 nos pulmões de ratos em desenvolvimento resulta em patologias variáveis, que têm em comum alterações no processo de alveolarização. [72] Recém-nascidos que, posteriormente, irão desenvolver DBP apresentam níveis elevados de IL-1 β , IL-8 e TNF- α e de múltiplas outras citocinas, quimiocinas e outros promotores e produtos da inflamação nas suas vias aéreas logo após o nascimento. [56]

1.4.1 Corioamnionite e DBP

A inflamação surgindo no útero materno, com a exposição do feto a mediadores inflamatórios [14, 58, 77, 80] produzidos em resposta a infecções maternas, tem sido descrita como uma das importantes causas da DBP. [81] A exposição fetal à corioamnionite e ao aumento de citocinas pró-inflamatórias em fluido amniótico e sangue de cordão estão associados com aumento do risco de nascimento prematuro e DBP. [7, 8, 14, 82]

Watterberg e cols [5] encontraram associação entre corioamnionite histológica, redução na incidência de RDS e aumento na incidência de DBP em RNs pré-termo ventilados. Por outro lado, há estudos clínicos não confirmando esses achados. [50, 83, 84]

1.5 Citocinas na infecção/inflamação intraútero e pulmão imaturo

A inflamação faz parte da resposta imune inata; caracteriza-se por recrutamento de células inflamatórias para o local da infecção, liberação de citocinas, peptídeos antimicrobianos e outros mediadores inflamatórios. [33]

Citocinas são usualmente proteínas sinalizadoras extracelulares.[85] São produzidas por diferentes tipos de células e envolvidas em interações célula-célula,

agindo através de receptores específicos localizados na superfície das células-alvo. Como um grupo, estas proteínas têm como função primária modificar o comportamento das células adjacentes induzindo crescimento, diferenciação, quimiotaxia, ativação e/ou aumento da citotoxicidade das células de vários tecidos. [85, 86]

Estes peptídeos imunorreguladores são liberados principalmente por monócitos/macrófagos e linfócitos T e também por vários outros tipos celulares (linfócitos B, células “*natural killer*”, mastócitos, neutrófilos, fibroblastos, células endoteliais, eosinófilos etc.), em resposta a endotoxinas e dano celular, entre outros. [87] Seus efeitos iniciam após contato com receptores específicos de alta afinidade, geralmente situados na membrana celular, causando alterações de comportamento e na expressão genética das células alvo. [87, 88]

A função mais importante das citocinas parece ser a comunicação intercelular na rede local através da modulação das células adjacentes. [89, 90]

Há sólidas evidências indicando que as citocinas desempenham um papel central nos mecanismos infecção/inflamação intrauterina induzindo nascimento prematuro, [33] e a exposição antenatal a citocinas pró-inflamatórias tem sido vista como um fator de risco para o desenvolvimento de DBP. [7, 15, 91, 92]

O TNF- α é um potente mediador da resposta inflamatória pulmonar, [93, 94] promovendo, juntamente com outras citocinas pró-inflamatórias, a liberação de quimiocinas, como a IL-8, que levam a infiltração de células imunes (principalmente neutrófilos e células mononucleares) para o interior do tecido pulmonar. [86, 88, 95, 96] Existem evidências de que a exposição intrauterina ao TNF- α induz a um processo

inflamatório nas vias aéreas fetais, desencadeando uma sequência de dano pulmonar que pode continuar após o nascimento, [45] levando à DBP.

Foram encontrados níveis elevados de IL-6 em líquido amniótico (LA) de gestantes em trabalho de parto prematuro com infecção intrauterina. [97] Níveis elevados de IL-6 no LA estão intimamente correlacionados com corioamnionite histológica [39, 98] e também são descritos como um fator de risco para o desenvolvimento de DBP. [7] Entretanto, o valor preditivo para DBP foi melhor para o aumento nas concentrações de IL-6 no sangue do cordão do que para IL-6 no líquido amniótico (LA). [7]

Além da IL-6, outras citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1 β , IL-8 e TNF- α , são encontradas em concentrações significativamente aumentadas no líquido amniótico e no sangue do cordão em pacientes em trabalho de parto prematuro espontâneo com infecção intrauterina associada. [39, 98-102] A presença destas citocinas no líquido amniótico e no sangue do cordão tem sido associada à lesão cerebral e pulmonar fetal e neonatal, resultando em displasia broncopulmonar e leucomalácia periventricular. [7, 8, 13, 49, 97, 103]

O papel das citocinas e dos mediadores da resposta inflamatória pulmonar em RNs prematuros vem também sendo estudado através de sua detecção em amostras de lavado traqueobrônquico (LTB) [104-106]. Um aumento de células inflamatórias e de várias citocinas têm sido descrito nas vias aéreas de RNs que posteriormente desenvolvem DBP. [107, 108] Vários pesquisadores descreveram que mediadores inflamatórios, incluindo as interleucinas IL-1 β , IL-6, IL-8, e TNF- α , estão presentes em

altas concentrações em aspirado traqueobrônquico [104, 109-111] de RNs com DPC. [7, 13] Um estudo recente mostrou uma associação entre as concentrações das interleucinas TNF- α e IL-10 no aspirado traqueobrônquico de RNs prematuros entre 24 e 32 semanas de idade gestacional e o tempo de ruptura das membranas amnióticas. Neste mesmo estudo evidenciou-se uma associação negativa entre fluxos pulmonares forçados (FEF₅₀, FEF₇₅, FEF₈₅, FEF₂₅₋₇₅) e FEV_{0,5} e os níveis de TNF- α , sugerindo que a presença dessa citocina nas vias aéreas durante os primeiros dias de vida está associada a anormalidades na função pulmonar mensurada semanas ou meses mais tarde. [112]

1.6 Infecção antenatal e inflamação/dano pulmonar no recém-nascido

No processo inflamatório/infeccioso que se inicia na vida intrauterina, o pulmão fetal pode receber os produtos inflamatórios através da aspiração dos mesmos do interior do líquido amniótico. [22] Na presença de corioamnionite e funisite os neutrófilos podem migrar para o líquido amniótico e conseqüentemente ser aspirados pelo feto. O encontro de neutrófilos no interior dos alvéolos pulmonares é considerado uma evidência de corioamnionite. [48, 113]

Não se sabe ao certo sobre como o pulmão prematuro inicia e sustenta a resposta inflamatória: esta informação é central para o entendimento da progressão do dano pulmonar para DBP resultando em alterações alveolares e na microvasculatura pulmonar. [20] Sabe-se que essa resposta inflamatória é complexa, e vários componentes

têm sido identificados como sendo de grande importância na promoção do dano pulmonar e na inibição da alveolarização. [20]

Tem-se observado uma pronunciada resposta inflamatória no parênquima pulmonar do feto exposto à corioamnionite. Observa-se uma infiltração de células inflamatórias (macrófagos, neutrófilos e linfócitos) e um aumento na expressão de citocinas pró-inflamatórias. [58] Também observou-se que a exposição intrauterina a citocinas pró-inflamatórias e a outros mediadores durante a corioamnionite resulta em um aumento do número de células apoptóticas na via aérea dos fetos humanos. [114] Similares observações têm sido feitas em modelos animais, confirmado-se que fetos prematuros desenvolvem uma vigorosa e adequada resposta inflamatória e que a mesma pode ser modulada e regulada rapidamente pelo próprio feto. [115] Em estudos experimentais foram criados modelos de corioamnionite em fetos de cordeiros para pesquisar as consequências da exposição fetal à inflamação. Foram realizadas injeções intra-amnióticas de *E coli*, resultando em um grande aumento de células inflamatórias no corioâmion e no líquido amniótico, com aumento na expressão de IL-1 β , IL-6 e IL-8. [116] O pulmão fetal respondeu com uma resposta inflamatória aguda (com um influxo de células inflamatórias e aumento na expressão de citocinas pró-inflamatórias um a dois dias após a injeção de endotoxina intra-amniótica). Dentro de 7 dias, a inflamação pulmonar fetal foi associada a um decréscimo no desenvolvimento microvascular e na septação alveolar (diminuição do número dos alvéolos e aumento do tamanho) resultando em uma modificação anatômica do tipo DBP leve. [117] Entretanto, a exposição desses fetos de cordeiros à endotoxina intra-amniótica durante 28 dias não levou a dano pulmonar progressivo, mostrando que uma exposição fetal

prolongada à endotoxina no líquido amniótico causou inflamação leve e persistente, mas não levou a anormalidades estruturais progressivas. [118]

Há dados epidemiológicos que sugerem uma forte associação entre corioamnionite, inflamação pulmonar e o desenvolvimento de DBP em humanos. Embora os mecanismos pelos quais uma resposta inflamatória fetal possa aumentar os riscos para DBP são incompletamente conhecidos, esse início precoce de inflamação pulmonar ainda intrauterina tem sido visto como um passo crucial na patogênese de DBP.[67]

O que se sabe é que durante a fase aguda do dano pulmonar, estímulos diretos ou indiretos iniciam uma resposta inflamatória, levando à inflamação pulmonar. Citocinas e outros mediadores inflamatórios têm um importante papel na regulação e na manutenção dessa resposta. A liberação de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1, IL-6), quimiocinas (IL-8, MIP-2), mediadores lipídicos (LTB₄, PAF, PG_s), fator de plaquetas 4 e várias células pulmonares locais (ex.: células epiteliais da via aérea, células endoteliais), bem como a ativação do complemento (C3a, C5a), causam mudanças na permeabilidade vascular, [119-121] levando à saída de proteínas a partir do plasma e ao aumento da expressão de adesão molecular pelas células endoteliais com subsequente movimento de leucócitos a partir do compartimento vascular pulmonar para o interstício e para o espaço alveolar. Nas primeiras horas, os macrófagos são o tipo celular predominante nos alvéolos, seguidos por infiltração de neutrófilos (6 a 12 horas), de linfócitos e de monócitos (24 a 48 horas). [121] A diapedese dos neutrófilos, desde as vênulas até o tecido pulmonar, dá-se em diferentes fases, em cada uma das quais estão implicadas diferentes moléculas de adesão intercelular. [96]

O contato direto célula a célula entre macrófagos e monócitos estimulados, linfócitos T e outras células, leva à produção de citocinas pró-inflamatórias e de outros mediadores inflamatórios, resultando em um ciclo que pode se perpetuar. [121]

O papel das citocinas na inflamação e no dano tecidual tem importância tanto na fase aguda como na fase de resolução. Mecanismos de *feedback* e secreção controlada de citocinas são de vital importância para determinar a resolução do processo. Citocinas pró-inflamatórias da fase aguda (TNF, IL-1, IL-6) podem amplificar a resposta inflamatória, [87, 88] e esta ação pode modificar a matriz genética das células teciduais locais estimulando o recrutamento e proliferação dos fibroblastos, alterando a síntese do colágeno e levando à subsequente fibrose tecidual. A supressão da atividade pró-inflamatória dos neutrófilos, macrófagos, linfócitos e seus respectivos mediadores inflamatórios é estabelecida por citocinas antiinflamatórias, dentre elas a IL-10, [87, 122] levando a um processo de reparo tecidual. [87] Contudo, se o ciclo agudo se perpetua com acúmulo de células inflamatórias e produção de mediadores, o mesmo processo pode levar à lesão pulmonar irreversível. [87, 123] Uma infiltração de células inflamatórias, predominantemente macrófagos alveolares e linfócitos, a proliferação de fibroblastos e alterações no metabolismo do colágeno são achados patológicos na inflamação pulmonar crônica. [87, 123] Inicialmente, o aumento nas concentrações de citocinas inflamatórias e de outros mediadores inflamatórios também encontram-se presentes neste estágio e [87, 88] este período usualmente resulta em dano tecidual pulmonar extenso, com um prejuízo longo e duradouro na arquitetura e no desenvolvimento funcional dos pulmões.

1.7 Desenvolvimento e prognóstico pulmonar em pré-terms

A prematuridade, os eventos que a provocam e as intervenções que dela decorrem alteram de maneira permanente, em maior ou menor grau, o desenvolvimento do sistema respiratório. [124]

Sabe-se que diversos fatores perinatais podem desencadear uma sequência de eventos que levarão, em última instância, ao desenvolvimento de alterações estruturais pulmonares persistentes, e conseqüentemente, ao aumento da incidência de morbidades respiratórias posteriores. [124] Pouco se conhece acerca dos diferentes padrões de remodelamento que ocorrem em um sistema respiratório imaturo, variando de acordo com o estágio do desenvolvimento afetado. No entanto, parece claro que este remodelamento ocorre em diversas estruturas importantes da árvore respiratória. [124]

A grande maioria dos estudos iniciais que avaliaram desfechos respiratórios em crianças pré-termo nascidas nas décadas de 60 e 70 não apresentava uma diferenciação entre aquelas submetidas ou não à ventilação assistida, bem como a presença ou não de DMH, infecções ou desenvolvimento de DBP, não sendo possível assim, avaliar a contribuição de cada um desses fatores, independentemente, nos desfechos avaliados. Nesse contexto, diversos estudos descreveram alterações pulmonares a longo prazo em crianças nascidas prematuramente, incluindo incidência aumentada de pneumonias e bronquiolite, [124] re-hospitalizações frequentes por doenças respiratórias, [125-127] tosse e sibilância crônica e recorrente, [127, 128] hiperreatividade brônquica [127, 129,

130] e anormalidades na função pulmonar, como aumento da resistência, propensão a alçaponamento aéreo e redução de fluxos. [127, 128, 131-133]

Kitchen e cols relataram aumento do risco de re-hospitalizações, bem como do número de dias de internação, em prematuros com até 5 anos de idade (principalmente nos primeiros 2 anos), sendo que aqueles com peso de nascimento inferior a 1.000 g apresentaram cerca de 3 vezes mais re-hospitalizações, comparados a crianças a termo. As principais causas para estas hospitalizações foram infecções respiratórias (bronquite, bronquiolite, infecção de vias aéreas superiores, pneumonia). Os problemas respiratórios demonstraram ser a principal morbidade no grupo prematuro (40%). Surpreendentemente, as internações por asma não foram mais frequentes no grupo de prematuros, e o tempo de VM ou a dependência de oxigênio tampouco estiveram estatisticamente associados à maior incidência de reinternações nessas crianças. [126]

Embora existam alguns relatos de associação entre prematuridade e maior incidência de asma na infância, [134, 135] outros autores [128] não encontraram relação entre asma, prematuridade e fatores perinatais, incluindo doença respiratória ao nascimento, em comparação com crianças a termo. Greenough e cols relataram uma alta prevalência de sintomas respiratórios em prematuros, sendo da ordem de 47%, 36% e 33%, respectivamente no primeiro, segundo e terceiro ano de vida. [136]

Os sobreviventes de DBP tendem a apresentar uma incidência aumentada de infecções respiratórias inferiores (bronquiolite, pneumonia) quando comparados a prematuros sem DBP. Além disso, também demonstrou-se um aumento da incidência de bronquite (até os 2 anos) nesta população, se comparada a prematuros sem DBP e a

controles a termo. [137] Estas crianças tendem a ser mais suscetíveis à hiperresponsividade das vias aéreas e a infecções respiratórias de repetição, com um risco maior de hospitalizações nos primeiros dois anos de vida. [138]

Recentemente, alguns autores sugeriram que a prematuridade *per se* pudesse ser um fator de risco independente para a alteração de função pulmonar posterior. [127, 139, 140] Estas alterações seriam mais aparentes nos primeiros anos de vida, tornando-se menos evidentes no decorrer dos anos seguintes. [141] O estudo realizado por Friedrich e cols [140] realizou testes de função pulmonar através da Técnica da Compressão Torácica Rápida a partir de volumes elevados em bebês prematuros saudáveis. Os autores demonstraram que estes pacientes apresentam capacidade vital normal mas fluxos expiratórios reduzidos nos primeiros 6 meses de vida, sugerindo que, precocemente, estes prematuros já apresentam uma função aérea reduzida, mas com tamanhos pulmonares dentro da normalidade. Esta redução de fluxos com volumes pulmonares normais foi acompanhada de uma alta incidência posterior (até 1 ano de vida) de sibilância no grupo estudado.

O período compreendido entre os primeiros 12 meses de vida caracteriza-se por uma grande velocidade de crescimento somático e, conseqüentemente, pulmonar, além de ser o responsável pela apresentação da maior parte dos problemas respiratórios da infância. Considerando-se que, até as 36 semanas de gestação, apenas a fase sacular do desenvolvimento pulmonar intrauterino está completa, [142] o nascimento prematuro se associa a uma interrupção do padrão natural de desenvolvimento pulmonar, podendo resultar em alterações nas propriedades mecânicas dos pulmões e das vias aéreas. Uma alteração de função pulmonar já em idade precoce explicaria a alta morbimortalidade

por doenças respiratórias nesta população durante o primeiro ano de vida e poderia, eventualmente, estar associada a alterações obstrutivas crônicas na vida adulta.

Devido ao fato de o desenvolvimento das vias aéreas preceder o desenvolvimento dos alvéolos e da microvasculatura pulmonar, os distúrbios do desenvolvimento do parênquima podem ser mais severos do que as alterações das vias aéreas, quando testados pouco tempo após o nascimento prematuro.

Yuksel, [143] já em 1992, encontrou um aumento da resistência de vias aéreas e de CRF em prematuros saudáveis aos 6 e aos 20 meses corrigidos, sugerindo um desenvolvimento alveolar e de vias aéreas alterado neste grupo de bebês. Gappa e cols[144] apresentaram dados referentes a prematuros com e sem DBP coletados em três países europeus (Inglaterra, Alemanha e Noruega), que também sugerem uma redução da função pulmonar deste grupo com 1 ano de idade, independente da severidade da doença subjacente ou do modo de ventilação no período neonatal.

Os estudos de Hjalmarson & Sandberg [141] e de Hoo e cols [139] ressaltam a importância da prematuridade *per se* no crescimento pulmonar subsequente, aliando-se à proposta de Jobe [145] de que estas crianças estariam funcionalmente crescendo além de suas vias aéreas. Os mecanismos subjacentes a estas observações permanecem especulativos, mas talvez incluam o fato de que a maturação, o crescimento dimensional e a septação alveolar ocorrem de maneira distinta após um nascimento prematuro, podendo assim resultar em vias aéreas mais complacentes, menores e/ou com menos conexões alveolares. [144]

Há evidências crescentes de que a redução da função pulmonar que se segue ao parto pré-termo possa estar relacionada a alterações de desenvolvimento. Os cuidados antenatais e a prevenção da prematuridade são tão importantes para a futura saúde pulmonar a longo prazo quanto os novos aprimoramentos nas estratégias de ventilação no período neonatal. [144]

Existem ainda várias lacunas na compreensão do crescimento e do desenvolvimento pulmonar normal e da resposta do sistema respiratório a insultos precoces. Há evidências crescentes de que muitas alterações possam persistir até a infância tardia ou mesmo até a idade adulta. [129, 146] Doyle [147], ao medir função pulmonar de prematuros menores de 1.000 g aos 14 anos e compará-las à função pulmonar de controles a termo, relatou que, embora a incidência de sintomas e a prevalência de asma e de re-hospitalizações entre os dois grupos tenham sido semelhantes, mesmo entre os portadores de DBP, os fluxos expiratórios encontravam-se reduzidos nos prematuros (32% *versus* 8% nos controles), com 22% apresentando repercussões clínicas. Por outro lado, as variáveis que refletem os volumes pulmonares e o alçaponamento de ar foram semelhantes nos dois grupos. Schraeder e cols não encontraram alterações significativas em função pulmonar, sintomas respiratórios e hiperreatividade num grupo de prematuros (ventilados e não-ventilados, displásicos e não-displásicos), testados com 10 a 11 anos de idade. No entanto, o grupo de prematuros apresentou função pulmonar reduzida se comparado a crianças a termo. [148]

A alteração de função pulmonar em crianças com história de DBP já é fato conhecido. A maioria dos estudos com pacientes que apresentaram DMH [146] e/ou DBP [129-131, 133, 146, 149-153] demonstrou um aumento da incidência de sibilância

(até 60% entre os 7-10 anos) e comprometimento da função pulmonar com alterações principalmente obstrutivas (hiperinsuflação, redução de complacência e aumento de resistência) durante a infância e a adolescência.

Diversos estudos de seguimento de pacientes com DBP demonstram alterações pulmonares inclusive durante a adolescência e a idade adulta. [154] Apesar de uma melhora relativa ao longo da infância, [155] o acompanhamento dessas crianças, a longo prazo, tem revelado persistência de anormalidades pulmonares, com redução de fluxos aéreos, sugerindo obstrução e hiperresponsividade das vias aéreas. [156] Esta permanência de alterações ventilatórias poderia significar uma adição de efeitos adversos relacionados ao parto pré-termo com DBP, em uma idade na qual há um crescimento somático acelerado, fazendo com que as vias aéreas não consigam acompanhar este ritmo de crescimento.

A avaliação do impacto de exposições pré e pós-natais na saúde respiratória a curto prazo tem sido facilitada pela recente emergência de técnicas objetivas para a mensuração de função pulmonar em lactentes. [157] O padrão de crescimento e do desenvolvimento das vias aéreas e do parênquima pulmonar durante o primeiro ano de vida em prematuros ainda não foi bem definido. Um melhor entendimento das alterações funcionais do sistema respiratório que ocorrem durante o crescimento é essencial para determinar como os insultos perinatais podem produzir danos agudos ou crônicos em vias aéreas e parênquima pulmonar. [124]

2 JUSTIFICATIVA

Corioamnionite está associada ao desenvolvimento de doença pulmonar crônica da prematuridade; entretanto, esta observação não foi confirmada em todos os estudos realizados. Tal discrepância pode ser explicada pelas diferentes definições utilizadas tanto de displasia broncopulmonar como de infecção intrauterina.

O desfecho proposto neste estudo, medida de volumes e fluxos expiratórios máximos, por ser uma variável contínua, permitirá uma análise mais acurada da associação entre infecção e desenvolvimento pulmonar. Adicionalmente, teremos uma medida de magnitude do efeito, após ajustes para conhecidos fatores que afetam a função pulmonar, como gênero, idade gestacional e exposição a tabagismo intraútero.

Nossa **hipótese** é de que a exposição à inflamação intrauterina leve a um acelerado processo de maturação pulmonar trazendo como consequência alteração estrutural, possivelmente de caráter permanente. Estas alterações provavelmente não estão limitadas aos recém-nascidos de extremo baixo peso. Acreditamos que possam ser detectadas, por medidas de fluxos máximos, mesmo em prematuros tardios.

3 OBJETIVO

Analisar a associação entre corioamnionite histológica e função pulmonar em RNs pré-termo nos primeiros meses de vida.

4 BIBLIOGRAFIA

- [1] Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med.* 2000 May 18;342(20):1500-7.
 - [2] Maxwell NC, Davies PL, Kotecha S. Antenatal infection and inflammation: what's new? *Curr Opin Infect Dis.* 2006 Jun;19(3):253-8.
 - [3] Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet.* 2008 Jan 5;371(9606):75-84.
 - [4] Menon R, Fortunato SJ. Fetal membrane inflammatory cytokines: a switching mechanism between the preterm premature rupture of the membranes and preterm labor pathways. *J Perinat Med.* 2004;32(5):391-9.
 - [5] Watterberg KL, Demers LM, Scott SM, Murphy S. Chorioamnionitis and early lung inflammation in infants in whom bronchopulmonary dysplasia develops. *Pediatrics.* 1996 Feb;97(2):210-5.
-

-
- [6] Ramsey PS, Lieman JM, Brumfield CG, Carlo W. Chorioamnionitis increases neonatal morbidity in pregnancies complicated by preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2005 Apr;192(4):1162-6.
- [7] Yoon BH, Romero R, Jun JK, Park KH, Park JD, Ghezzi F, et al. Amniotic fluid cytokines (interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-8) and the risk for the development of bronchopulmonary dysplasia. *Am J Obstet Gynecol.* 1997 Oct;177(4):825-30.
- [8] Yoon BH, Jun JK, Romero R, Park KH, Gomez R, Choi JH, et al. Amniotic fluid inflammatory cytokines (interleukin-6, interleukin-1beta, and tumor necrosis factor-alpha), neonatal brain white matter lesions, and cerebral palsy. *Am J Obstet Gynecol.* 1997 Jul;177(1):19-26.
- [9] Yoon BH, Romero R, Yang SH, Jun JK, Kim IO, Choi JH, et al. Interleukin-6 concentrations in umbilical cord plasma are elevated in neonates with white matter lesions associated with periventricular leukomalacia. *Am J Obstet Gynecol.* 1996 May;174(5):1433-40.
- [10] Yoon BH, Romero R, Park JS, Kim CJ, Kim SH, Choi JH, et al. Fetal exposure to an intra-amniotic inflammation and the development of cerebral palsy at the age of three years. *Am J Obstet Gynecol.* 2000 Mar;182(3):675-81.
- [11] Redline RW, Wilson-Costello D, Borawski E, Fanaroff AA, Hack M. Placental lesions associated with neurologic impairment and cerebral palsy in very low-birth-weight infants. *Archives of pathology & laboratory medicine.* 1998 Dec;122(12):1091-8.
-

-
- [12] Vigneswaran R. Infection and preterm birth: evidence of a common causal relationship with bronchopulmonary dysplasia and cerebral palsy. *J Paediatr Child Health*. 2000 Aug;36(4):293-6.
- [13] Yoon BH, Romero R, Kim KS, Park JS, Ki SH, Kim BI, et al. A systemic fetal inflammatory response and the development of bronchopulmonary dysplasia. *Am J Obstet Gynecol*. 1999 Oct;181(4):773-9.
- [14] Gomez R, Romero R, Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Berry SM. The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 1998 Jul;179(1):194-202.
- [15] Miralles RE, Hodge R, Kotecha S. Antenatal inflammation and infection in chronic lung disease of prematurity. *Child Care Health Dev*. 2002 Sep;28 Suppl 1:11-5.
- [16] Kramer BW. Antenatal inflammation and lung injury: prenatal origin of neonatal disease. *J Perinatol*. 2008 May;28 Suppl 1:S21-7.
- [17] Fitzgerald DA, Mesiano G, Brosseau L, Davis GM. Pulmonary outcome in extremely low birth weight infants. *Pediatrics*. 2000 Jun;105(6):1209-15.
- [18] Thurlbeck WM. Prematurity and the developing lung. *Clinics in perinatology*. 1992 Sep;19(3):497-519.
- [19] Jobe AH. Antenatal associations with lung maturation and infection. *J Perinatol*. 2005 May;25 Suppl 2:S31-5.
-

-
- [20] Jobe AH, Ikegami M. Antenatal infection/inflammation and postnatal lung maturation and injury. *Respir Res.* 2001;2(1):27-32.
- [21] Stick S. The contribution of airway development to paediatric and adult lung disease. *Thorax.* 2000;55:587-94.
- [22] Jobe AH. Antenatal factors and the development of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Neonatol.* 2003 Feb;8(1):9-17.
- [23] Cornette L. Fetal and neonatal inflammatory response and adverse outcome. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2004 Dec;9(6):459-70.
- [24] Klein LL, Gibbs RS. Use of microbial cultures and antibiotics in the prevention of infection-associated preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2004 Jun;190(6):1493-502.
- [25] Aaltonen R, Heikkinen T, Hakala K, Laine K, Alanen A. Transfer of proinflammatory cytokines across term placenta. *Obstet Gynecol.* 2005 Oct;106(4):802-7.
- [26] Keelan JA, Blumenstein M, Helliwell RJ, Sato TA, Marvin KW, Mitchell MD. Cytokines, prostaglandins and parturition--a review. *Placenta.* 2003 Apr;24 Suppl A:S33-46.
- [27] Saji F, Samejima Y, Kamiura S, Sawai K, Shimoya K, Kimura T. Cytokine production in chorioamnionitis. *Journal of reproductive immunology.* 2000 Jul;47(2):185-96.
-

-
- [28] Lee SE, Romero R, Jung H, Park CW, Park JS, Yoon BH. The intensity of the fetal inflammatory response in intraamniotic inflammation with and without microbial invasion of the amniotic cavity. *Am J Obstet Gynecol.* 2007 Sep;197(3):294 e1-6.
- [29] Oner C, Schatz F, Kizilay G, Murk W, Buchwalder LF, Kayisli UA, et al. Progesterone-inflammatory cytokine interactions affect matrix metalloproteinase-1 and -3 expression in term decidual cells: implications for treatment of chorioamnionitis-induced preterm delivery. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Jan;93(1):252-9.
- [30] Andrews WW, Hauth JC, Goldenberg RL, Gomez R, Romero R, Cassell GH. Amniotic fluid interleukin-6: correlation with upper genital tract microbial colonization and gestational age in women delivered after spontaneous labor versus indicated delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 1995 Aug;173(2):606-12.
- [31] Gomez R, Romero R, Edwin SS, David C. Pathogenesis of preterm labor and preterm premature rupture of membranes associated with intraamniotic infection. *Infect Dis Clin North Am.* 1997 Mar;11(1):135-76.
- [32] Yoon BH, Romero R, Jun JK, Maymon E, Gomez R, Mazor M, et al. An increase in fetal plasma cortisol but not dehydroepiandrosterone sulfate is followed by the onset of preterm labor in patients with preterm premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1998 Nov;179(5):1107-14.
-

-
- [33] Romero R, Espinoza J, Goncalves LF, Kusanovic JP, Friel LA, Nien JK. Inflammation in preterm and term labour and delivery. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2006 Oct;11(5):317-26.
- [34] Gibbs RS, Schrag S, Schuchat A. Perinatal infections due to group B streptococci. *Obstet Gynecol.* 2004 Nov;104(5 Pt 1):1062-76.
- [35] Miralles R, Hodge R, McParland PC, Field DJ, Bell SC, Taylor DJ, et al. Relationship between antenatal inflammation and antenatal infection identified by detection of microbial genes by polymerase chain reaction. *Pediatr Res.* 2005 Apr;57(4):570-7.
- [36] Bearfield C, Davenport ES, Sivapathasundaram V, Allaker RP. Possible association between amniotic fluid micro-organism infection and microflora in the mouth. *Bjog.* 2002 May;109(5):527-33.
- [37] Scanlon J. The early detection of neonatal sepsis by examination of liquid obtained from the external ear canal. *J Pediatr.* 1971 Aug;79(2):247-9.
- [38] Gardella C, Riley DE, Hitti J, Agnew K, Krieger JN, Eschenbach D. Identification and sequencing of bacterial rDNAs in culture-negative amniotic fluid from women in premature labor. *Am J Perinatol.* 2004 Aug;21(6):319-23.
- [39] Redline RW. Inflammatory responses in the placenta and umbilical cord. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2006 Oct;11(5):296-301.
- [40] Viscardi RM, Manimtim WM, Sun CC, Duffy L, Cassell GH. Lung pathology in premature infants with *Ureaplasma urealyticum* infection. *Pediatr Dev Pathol.* 2002 Mar-Apr;5(2):141-50.
-

-
- [41] Agarwal P, Rajadurai VS, Pradeepkumar VK, Tan KW. Ureaplasma urealyticum and its association with chronic lung disease in Asian neonates. *J Paediatr Child Health*. 2000 Oct;36(5):487-90.
- [42] Cassell GH, Waites KB, Watson HL, Crouse DT, Harasawa R. Ureaplasma urealyticum intrauterine infection: role in prematurity and disease in newborns. *Clin Microbiol Rev*. 1993 Jan;6(1):69-87.
- [43] Dyke MP, Graaug A, Kohan R, Ott K, Andrews R. Ureaplasma urealyticum in a neonatal intensive care population. *J Paediatr Child Health*. 1993 Aug;29(4):295-7.
- [44] Goncalves LF, Chaiworapongsa T, Romero R. Intrauterine infection and prematurity. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*. 2002;8(1):3-13.
- [45] Lyon A. Chronic lung disease of prematurity. The role of intra-uterine infection. *Eur J Pediatr*. 2000 Nov;159(11):798-802.
- [46] Yoon BH, Romero R, Park JS, Kim M, Oh SY, Kim CJ, et al. The relationship among inflammatory lesions of the umbilical cord (funisitis), umbilical cord plasma interleukin 6 concentration, amniotic fluid infection, and neonatal sepsis. *Am J Obstet Gynecol*. 2000 Nov;183(5):1124-9.
- [47] Patterson AM, Taciak V, Lovchik J, Fox RE, Campbell AB, Viscardi RM. Ureaplasma urealyticum respiratory tract colonization is associated with an increase in interleukin 1-beta and tumor necrosis factor alpha relative to interleukin 6 in tracheal aspirates of preterm infants. *Pediatr Infect Dis J*. 1998 Apr;17(4):321-8.
-

-
- [48] Miranda RN, Omurtag K, Castellani WJ, De las Casas LE, Quintanilla NM, Kaabipour E. Myelopoiesis in the liver of stillborns with evidence of intrauterine infection. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2006 Dec;130(12):1786-91.
- [49] Kallapur SG, Jobe AH. Contribution of inflammation to lung injury and development. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2006 Mar;91(2):F132-5.
- [50] Kent A, Dahlstrom JE. Chorioamnionitis/funisitis and the development of bronchopulmonary dysplasia. *J Paediatr Child Health*. 2004 Jul;40(7):356-9.
- [51] Ogunyemi D, Murillo M, Jackson U, Hunter N, Alperson B. The relationship between placental histopathology findings and perinatal outcome in preterm infants. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2003 Feb;13(2):102-9.
- [52] Lau J, Magee F, Qiu Z, Hoube J, Von Dadelszen P, Lee SK. Chorioamnionitis with a fetal inflammatory response is associated with higher neonatal mortality, morbidity, and resource use than chorioamnionitis displaying a maternal inflammatory response only. *Am J Obstet Gynecol*. 2005 Sep;193(3 Pt 1):708-13.
- [53] Steel JH, O'Donoghue K, Kennea NL, Sullivan MH, Edwards AD. Maternal origin of inflammatory leukocytes in preterm fetal membranes, shown by fluorescence in situ hybridisation. *Placenta*. 2005 Sep-Oct;26(8-9):672-7.
- [54] Naeye RL. Functionally important disorders of the placenta, umbilical cord, and fetal membranes. *Hum Pathol*. 1987 Jul;18(7):680-91.
-

-
- [55] Lee SD, Kim MR, Hwang PG, Shim SS, Yoon BH, Kim CJ. Chorionic plate vessels as an origin of amniotic fluid neutrophils. *Pathol Int.* 2004 Jul;54(7):516-22.
- [56] Speer CP. Inflammation and bronchopulmonary dysplasia. *Semin Neonatol.* 2003 Feb;8(1):29-38.
- [57] Curley AE, Sweet DG, Thornton CM, O'Hara MD, Chesshyre E, Pizzotti J, et al. Chorioamnionitis and increased neonatal lung lavage fluid matrix metalloproteinase-9 levels: implications for antenatal origins of chronic lung disease. *Am J Obstet Gynecol.* 2003 Apr;188(4):871-5.
- [58] Schmidt B, Cao L, Mackensen-Haen S, Kendziorra H, Klingel K, Speer CP. Chorioamnionitis and inflammation of the fetal lung. *Am J Obstet Gynecol.* 2001 Jul;185(1):173-7.
- [59] Dammann O, Leviton A, Gappa M, Dammann CE. Lung and brain damage in preterm newborns, and their association with gestational age, prematurity subgroup, infection/inflammation and long term outcome. *Bjog.* 2005 Mar;112 Suppl 1:4-9.
- [60] Redline RW. Placental inflammation. *Semin Neonatol.* 2004 Aug;9(4):265-74.
- [61] Tasci Y, Dilbaz B, Uzmez Onal B, Caliskan E, Dilbaz S, Doganci L, et al. The value of cord blood interleukin-6 levels for predicting chorioamnionitis, funisitis and neonatal infection in term premature rupture of membranes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006 Sep-Oct;128(1-2):34-9.
-

-
- [62] Buhimschi CS, Buhimschi IA, Abdel-Razeq S, Rosenberg VA, Thung SF, Zhao G, et al. Proteomic biomarkers of intra-amniotic inflammation: relationship with funisitis and early-onset sepsis in the premature neonate. *Pediatr Res*. 2007 Mar;61(3):318-24.
- [63] Romero R, Gomez R, Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Edwin SS, et al. A fetal systemic inflammatory response is followed by the spontaneous onset of preterm parturition. *Am J Obstet Gynecol*. 1998 Jul;179(1):186-93.
- [64] Pacora P, Chaiworapongsa T, Maymon E, Kim YM, Gomez R, Yoon BH, et al. Funisitis and chorionic vasculitis: the histological counterpart of the fetal inflammatory response syndrome. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2002 Jan;11(1):18-25.
- [65] Mittendorf R, Covert R, Montag AG, elMasri W, Muraskas J, Lee KS, et al. Special relationships between fetal inflammatory response syndrome and bronchopulmonary dysplasia in neonates. *J Perinat Med*. 2005;33(5):428-34.
- [66] Smulian JC, Vintzileos AM, Lai YL, Santiago J, Shen-Schwarz S, Campbell WA. Maternal chorioamnionitis and umbilical vein interleukin-6 levels for identifying early neonatal sepsis. *J Matern Fetal Med*. 1999 May-Jun;8(3):88-94.
- [67] Speer CP. Inflammation and bronchopulmonary dysplasia: a continuing story. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2006 Oct;11(5):354-62.
- [68] Fenton AC, Annich G, Mason E, Solimano A, Field DJ. Chronic lung disease following neonatal ventilation. I. incidence in two geographically defined populations. *Pediatr Pulmonol*. 1996 Jan;21(1):20-3.
-

-
- [69] Fenton AC, Mason E, Clarke M, Field DJ. Chronic lung disease following neonatal ventilation. II. Changing incidence in a geographically defined population. *Pediatr Pulmonol.* 1996 Jan;21(1):24-7.
- [70] Merkus PJ. Effects of childhood respiratory diseases on the anatomical and functional development of the respiratory system. *Paediatr Respir Rev.* 2003 Mar;4(1):28-39.
- [71] Hulsmann AR, van den Anker JN. Evolution and natural history of chronic lung disease of prematurity. *Monaldi Arch Chest Dis.* 1997 Jun;52(3):272-7.
- [72] Jobe AJ. The new BPD: an arrest of lung development. *Pediatr Res.* 1999 Dec;46(6):641-3.
- [73] Bancalari E, Abdenour GE, Feller R, Gannon J. Bronchopulmonary dysplasia: clinical presentation. *J Pediatr.* 1979 Nov;95(5 Pt 2):819-23.
- [74] Shennan AT, Dunn MS, Ohlsson A, Lennox K, Hoskins EM. Abnormal pulmonary outcomes in premature infants: prediction from oxygen requirement in the neonatal period. *Pediatrics.* 1988 Oct;82(4):527-32.
- [75] Fanaroff AA, Wright LL, Stevenson DK, Shankaran S, Donovan EF, Ehrenkranz RA, et al. Very-low-birth-weight outcomes of the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, May 1991 through December 1992. *Am J Obstet Gynecol.* 1995 Nov;173(5):1423-31.
- [76] Northway WH, Jr., Rosan RC, Porter DY. Pulmonary disease following respirator therapy of hyaline-membrane disease. Bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med.* 1967 Feb 16;276(7):357-68.
-

-
- [77] Speer CP. New insights into the pathogenesis of pulmonary inflammation in preterm infants. *Biol Neonate*. 2001;79(3-4):205-9.
- [78] Thibeault DW, Mabry SM, Ekekezie, II, Truog WE. Lung elastic tissue maturation and perturbations during the evolution of chronic lung disease. *Pediatrics*. 2000 Dec;106(6):1452-9.
- [79] Kallapur SG, Jobe AH, Ikegami M, Bachurski CJ. Increased IP-10 and MIG expression after intra-amniotic endotoxin in preterm lamb lung. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Mar 1;167(5):779-86.
- [80] De Dooy JJ, Mahieu LM, Van Bever HP. The role of inflammation in the development of chronic lung disease in neonates. *Eur J Pediatr*. 2001 Aug;160(8):457-63.
- [81] Romero R, Chaiworapongsa T, Espinoza J. Micronutrients and intrauterine infection, preterm birth and the fetal inflammatory response syndrome. *J Nutr*. 2003 May;133(5 Suppl 2):1668S-73S.
- [82] Romero R, Espinoza J, Chaiworapongsa T, Kalache K. Infection and prematurity and the role of preventive strategies. *Semin Neonatol*. 2002 Aug;7(4):259-74.
- [83] Watterberg KL, Gerdes JS, Cole CH, Aucott SW, Thilo EH, Mammel MC, et al. Prophylaxis of early adrenal insufficiency to prevent bronchopulmonary dysplasia: a multicenter trial. *Pediatrics*. 2004 Dec;114(6):1649-57.
- [84] Andrews WW, Goldenberg RL, Faye-Petersen O, Cliver S, Goepfert AR, Hauth JC. The Alabama Preterm Birth study: polymorphonuclear and mononuclear cell
-

- placental infiltrations, other markers of inflammation, and outcomes in 23- to 32-week preterm newborn infants. *Am J Obstet Gynecol.* 2006 Sep;195(3):803-8.
- [85] Kelley J. Cytokines of the lung. *Am Rev Respir Dis.* 1990 Mar;141(3):765-88.
- [86] Chung KF, Barnes PJ. Cytokines in asthma. *Thorax.* 1999 Sep;54(9):825-57.
- [87] Ozdemir A, Brown MA, Morgan WJ. Markers and mediators of inflammation in neonatal lung disease. *Pediatr Pulmonol.* 1997 Apr;23(4):292-306.
- [88] Gauldie J, Jordana M, Cox G. Cytokines and pulmonary fibrosis. *Thorax.* 1993 Sep;48(9):931-5.
- [89] Dinarello CA. Interleukin-1, interleukin-1 receptors and interleukin-1 receptor antagonist. *Int Rev Immunol.* 1998;16(5-6):457-99.
- [90] Opal SM, Wherry JC, Grint P. Interleukin-10: potential benefits and possible risks in clinical infectious diseases. *Clin Infect Dis.* 1998 Dec;27(6):1497-507.
- [91] Groneck P, Gotze-Speer B, Oppermann M, Eiffert H, Speer CP. Association of pulmonary inflammation and increased microvascular permeability during the development of bronchopulmonary dysplasia: a sequential analysis of inflammatory mediators in respiratory fluids of high-risk preterm neonates. *Pediatrics.* 1994 May;93(5):712-8.
- [92] Martin RJ, Walsh MC. Pre- and postnatal factors in chronic lung disease: implications for management. *Paediatr Respir Rev.* 2004;5 Suppl A:S235-40.
-

-
- [93] Murch SH, MacDonald TT, Wood CB, Costeloe KL. Tumour necrosis factor in the bronchoalveolar secretions of infants with the respiratory distress syndrome and the effect of dexamethasone treatment. *Thorax*. 1992 Jan;47(1):44-7.
- [94] Tracey KJ, Vlassara H, Cerami A. Cachectin/tumour necrosis factor. *Lancet*. 1989 May 20;1(8647):1122-6.
- [95] McColm JR, Stenson BJ, Biermasz N, McIntosh N. Measurement of interleukin 10 in bronchoalveolar lavage from preterm ventilated infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2000 Mar;82(2):F156-9.
- [96] Buron Martinez E, Blanco Quiros A, Garrote JA, Oyaguez P, Fernandez Calvo JL. [Cytokines and bronchopulmonary dysplasia]. *An Esp Pediatr*. 1998 Aug;49(2):116-9.
- [97] Romero R, Avila C, Santhanam U, Sehgal PB. Amniotic fluid interleukin 6 in preterm labor. Association with infection. *J Clin Invest*. 1990 May;85(5):1392-400.
- [98] Yoon BH, Romero R, Kim CJ, Jun JK, Gomez R, Choi JH, et al. Amniotic fluid interleukin-6: a sensitive test for antenatal diagnosis of acute inflammatory lesions of preterm placenta and prediction of perinatal morbidity. *Am J Obstet Gynecol*. 1995 Mar;172(3):960-70.
- [99] Singh B, Merchant P, Walker CR, Kryworuchko M, Diaz-Mitoma F. Interleukin-6 expression in cord blood of patients with clinical chorioamnionitis. *Pediatr Res*. 1996 Jun;39(6):976-9.
-

-
- [100] Salafia CM, Sherer DM, Spong CY, Lencki S, Eglinton GS, Parkash V, et al. Fetal but not maternal serum cytokine levels correlate with histologic acute placental inflammation. *Am J Perinatol.* 1997 Aug;14(7):419-22.
- [101] Dollner H, Vatten L, Halgunset J, Rahimipour S, Austgulen R. Histologic chorioamnionitis and umbilical serum levels of pro-inflammatory cytokines and cytokine inhibitors. *Bjog.* 2002 May;109(5):534-9.
- [102] Rogers BB, Alexander JM, Head J, McIntire D, Leveno KJ. Umbilical vein interleukin-6 levels correlate with the severity of placental inflammation and gestational age. *Hum Pathol.* 2002 Mar;33(3):335-40.
- [103] Viscardi RM, Muhumuza CK, Rodriguez A, Fairchild KD, Sun CC, Gross GW, et al. Inflammatory markers in intrauterine and fetal blood and cerebrospinal fluid compartments are associated with adverse pulmonary and neurologic outcomes in preterm infants. *Pediatr Res.* 2004 Jun;55(6):1009-17.
- [104] Jonsson B, Tullus K, Brauner A, Lu Y, Noack G. Early increase of TNF alpha and IL-6 in tracheobronchial aspirate fluid indicator of subsequent chronic lung disease in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1997 Nov;77(3):F198-201.
- [105] Groneck P, Speer CP. Inflammatory mediators and bronchopulmonary dysplasia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1995 Jul;73(1):F1-3.
- [106] McColm JR, McIntosh N. Interleukin-8 in bronchoalveolar lavage samples as predictor of chronic lung disease in premature infants. *Lancet.* 1994 Mar 19;343(8899):729.
-

-
- [107] Watterberg KL, Carmichael DF, Gerdes JS, Werner S, Backstrom C, Murphy S. Secretory leukocyte protease inhibitor and lung inflammation in developing bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr*. 1994 Aug;125(2):264-9.
- [108] Groneck P, Speer CP. Interleukin-8 in pulmonary effluent fluid of preterm infants. *J Pediatr*. 1993 Nov;123(5):839-40.
- [109] Kotecha S, Wilson L, Wangoo A, Silverman M, Shaw RJ. Increase in interleukin (IL)-1 beta and IL-6 in bronchoalveolar lavage fluid obtained from infants with chronic lung disease of prematurity. *Pediatr Res*. 1996 Aug;40(2):250-6.
- [110] Jones CA, Cayabyab RG, Kwong KY, Stotts C, Wong B, Hamdan H, et al. Undetectable interleukin (IL)-10 and persistent IL-8 expression early in hyaline membrane disease: a possible developmental basis for the predisposition to chronic lung inflammation in preterm newborns. *Pediatr Res*. 1996 Jun;39(6):966-75.
- [111] Huang HC, Yang MY, Huang CB, Yang KD. Profiles of inflammatory cytokines in bronchoalveolar lavage fluid from premature infants with respiratory distress disease. *J Microbiol Immunol Infect*. 2000 Mar;33(1):19-24.
- [112] Corso AL, Pitrez PM, Machado DC, Stein RT, Jones MH. TNF-alpha and IL-10 levels in tracheobronchial lavage of ventilated preterm infants and subsequent lung function. *Braz J Med Biol Res*. 2007 Apr;40(4):569-76.
- [113] Sampson JE, Theve RP, Blatman RN, Shipp TD, Bianchi DW, Ward BE, et al. Fetal origin of amniotic fluid polymorphonuclear leukocytes. *Am J Obstet Gynecol*. 1997 Jan;176(1 Pt 1):77-81.
-

-
- [114] May M, Marx A, Seidenspinner S, Speer CP. Apoptosis and proliferation in lungs of human fetuses exposed to chorioamnionitis. *Histopathology*. 2004 Sep;45(3):283-90.
- [115] Kramer BW, Jobe AH. The clever fetus: responding to inflammation to minimize lung injury. *Biol Neonate*. 2005;88(3):202-7.
- [116] Kallapur SG, Willet KE, Jobe AH, Ikegami M, Bachurski CJ. Intra-amniotic endotoxin: chorioamnionitis precedes lung maturation in preterm lambs. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2001 Mar;280(3):L527-36.
- [117] Kallapur SG, Bachurski CJ, Le Cras TD, Joshi SN, Ikegami M, Jobe AH. Vascular changes after intra-amniotic endotoxin in preterm lamb lungs. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2004 Dec;287(6):L1178-85.
- [118] Kallapur SG, Nitsos I, Moss TJ, Kramer BW, Newnham JP, Ikegami M, et al. Chronic endotoxin exposure does not cause sustained structural abnormalities in the fetal sheep lungs. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2005 May;288(5):L966-74.
- [119] Pierce MR, Bancalari E. The role of inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Pulmonol*. 1995 Jun;19(6):371-8.
- [120] Bellanti JA, Kadlec JV, Escobar-Gutierrez A. Cytokines and the immune response. *Pediatr Clin North Am*. 1994 Aug;41(4):597-621.
- [121] Strieter RM, Kunkel SL. Acute lung injury: the role of cytokines in the elicitation of neutrophils. *J Investig Med*. 1994 Dec;42(4):640-51.
-

-
- [122] Burger D, Dayer JM. Inhibitory cytokines and cytokine inhibitors. *Neurology*. 1995 Jun;45(6 Suppl 6):S39-43.
- [123] Finkelstein JN, Horowitz S, Sinkin RA, Ryan RM. Cellular and molecular responses to lung injury in relation to induction of tissue repair and fibrosis. *Clinics in perinatology*. 1992 Sep;19(3):603-20.
- [124] Friedrich L, Corso AL, Jones MH. [Pulmonary prognosis in preterm infants]. *J Pediatr (Rio J)*. 2005 Mar;81(1 Suppl):S79-88.
- [125] McCormick MC, Workman-Daniels K, Brooks-Gunn J, Peckham GJ. Hospitalization of very low birth weight children at school age. *J Pediatr*. 1993 Mar;122(3):360-5.
- [126] Kitchen WH, Ford GW, Doyle LW, Rickards AL, Kelly EA. Health and hospital readmissions of very-low-birth-weight and normal-birth-weight children. *Am J Dis Child*. 1990 Feb;144(2):213-8.
- [127] McLeod A, Ross P, Mitchell S, Tay D, Hunter L, Hall A, et al. Respiratory health in a total very low birthweight cohort and their classroom controls. *Arch Dis Child*. 1996 Mar;74(3):188-94.
- [128] Chan KN, Elliman A, Bryan E, Silverman M. Respiratory symptoms in children of low birth weight. *Arch Dis Child*. 1989 Sep;64(9):1294-304.
- [129] Pelkonen AS, Hakulinen AL, Turpeinen M. Bronchial lability and responsiveness in school children born very preterm. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997 Oct;156(4 Pt 1):1178-84.
-

-
- [130] Chan KN, Elliman A, Bryan E, Silverman M. Clinical significance of airway responsiveness in children of low birthweight. *Pediatr Pulmonol.* 1989;7(4):251-8.
- [131] Kitchen WH, Olinsky A, Doyle LW, Ford GW, Murton LJ, Slonim L, et al. Respiratory health and lung function in 8-year-old children of very low birth weight: a cohort study. *Pediatrics.* 1992 Jun;89(6 Pt 2):1151-8.
- [132] Stocks J, Godfrey S. The role of artificial ventilation, oxygen, and CPAP in the pathogenesis of lung damage in neonates: assessment by serial measurements of lung function. *Pediatrics.* 1976 Mar;57(3):352-62.
- [133] Coates AL, Bergsteinsson H, Desmond K, Outerbridge EW, Beaudry PH. Long-term pulmonary sequelae of premature birth with and without idiopathic respiratory distress syndrome. *J Pediatr.* 1977 Apr;90(4):611-6.
- [134] Elder DE, Hagan R, Evans SF, Benninger HR, French NP. Recurrent wheezing in very preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1996 May;74(3):F165-71.
- [135] Kelly YJ, Brabin BJ, Milligan P, Heaf DP, Reid J, Pearson MG. Maternal asthma, premature birth, and the risk of respiratory morbidity in schoolchildren in Merseyside. *Thorax.* 1995 May;50(5):525-30.
- [136] Greenough A, Giffin FJ, Yuksel B. Respiratory morbidity in preschool children born prematurely. Relationship to adverse neonatal events. *Acta Paediatr.* 1996 Jul;85(7):772-7.
-

-
- [137] Giacoia GP, Venkataraman PS, West-Wilson KI, Faulkner MJ. Follow-up of school-age children with bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr.* 1997 Mar;130(3):400-8.
- [138] Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 Jun;163(7):1723-9.
- [139] Hoo AF, Dezateux C, Henschen M, Costeloe K, Stocks J. Development of airway function in infancy after preterm delivery. *J Pediatr.* 2002 Nov;141(5):652-8.
- [140] Friedrich L, Stein RT, Pitrez PM, Corso AL, Jones MH. Reduced lung function in healthy preterm infants in the first months of life. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006 Feb 15;173(4):442-7.
- [141] Hjalmarson O, Sandberg K. Abnormal lung function in healthy preterm infants. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002 Jan 1;165(1):83-7.
- [142] Kotecha S. Lung growth: implications for the newborn infant. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2000 Jan;82(1):F69-74.
- [143] Yuksel B, Greenough A. Lung function in 6-20 month old infants born very preterm but without respiratory troubles. *Pediatr Pulmonol.* 1992;14:214-21.
- [144] Gappa M, Stocks J, Merkus P. Lung growth and development after preterm birth: further evidence. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003 Aug 1;168(3):399; author reply 400.
-

-
- [145] Jobe AH. An unknown: lung growth and development after very preterm birth. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Dec 15;166(12 Pt 1):1529-30.
- [146] Chan KN, Noble-Jamieson CM, Elliman A, Bryan EM, Silverman M. Lung function in children of low birth weight. *Arch Dis Child*. 1989 Sep;64(9):1284-93.
- [147] Doyle LW. Growth and respiratory health in adolescence of the extremely low-birth weight survivor. *Clinics in perinatology*. 2000 Jun;27(2):421-32.
- [148] Schraeder BD, Czajka C, Kalman DD, McGeady SJ. Respiratory health, lung function, and airway responsiveness in school-age survivors of very-low-birth-weight. *Clin Pediatr (Phila)*. 1998 Apr;37(4):237-45.
- [149] Hakulinen AL, Jarvenpaa AL, Turpeinen M, Sovijarvi A. Diffusing capacity of the lung in school-aged children born very preterm, with and without bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Pulmonol*. 1996 Jun;21(6):353-60.
- [150] Parat S, Moriette G, Delaperche MF, Escourrou P, Denjean A, Gaultier C. Long-term pulmonary functional outcome of bronchopulmonary dysplasia and premature birth. *Pediatr Pulmonol*. 1995;20(5):289-96.
- [151] Doyle LW, Chavasse R, Ford GW, Olinsky A, Davis NM, Callanan C. Changes in lung function between age 8 and 14 years in children with birth weight of less than 1,501 g. *Pediatr Pulmonol*. 1999 Mar;27(3):185-90.
- [152] Baraldi E, Filippone M, Trevisanuto D, Zanardo V, Zacchello F. Pulmonary function until two years of life in infants with bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997 Jan;155(1):149-55.
-

-
- [153] Merth I, de Winter J, Zonderland H, Borsboom G, Quanjer P. Pulmonary function in infants with neonatal chronic lung disease with or without hyaline membrane at birth. *Eur Respir J.* 1997;10:1606-13.
- [154] Northway WH, Jr., Moss RB, Carlisle KB, Parker BR, Popp RL, Pitlick PT, et al. Late pulmonary sequelae of bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med.* 1990 Dec 27;323(26):1793-9.
- [155] Blayney M, Kerem E, Whyte H, O'Brodovich H. Bronchopulmonary dysplasia: improvement in lung function between 7 and 10 years of age. *J Pediatr.* 1991 Feb;118(2):201-6.
- [156] Sadeghi H, Lowenthal DB, Dozor AJ. Inspiratory flow limitation in children with bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Pulmonol.* 1998 Sep;26(3):167-72.
- [157] Victora CG, Barros FC, Horta BL, Martorell R. Short-term benefits of catch-up growth for small-for-gestational-age infants. *Int J Epidemiol.* 2001 Dec;30(6):1325-30.
-

CAPÍTULO II

5 MÉTODOS

5.1 Delineamento

Estudo de coorte prospectivo.

5.2 Locais de realização

Os pacientes foram recrutados no Centro Obstétrico (CO) do Hospital São Lucas da PUC (HSL), acompanhados durante a internação na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN) e seguidos posteriormente no Ambulatório de Pneumologia Pediátrica. Os testes de função pulmonar foram realizados no Laboratório de Função Pulmonar para Lactentes localizado no Instituto de Pesquisas Biomédicas do Hospital São Lucas da PUC e a análise histológica do material coletado foi realizada no Laboratório de Patologia Edelweiss.

5.3 Pacientes

5.3.1 Critérios de inclusão: Foram incluídos nesse estudo, recém-nascidos (RNs) com idade gestacional inferior a 37 semanas, nascidos no Hospital São Lucas da PUC no período de junho/2004 a abril/2005.

5.3.2 Critérios de exclusão: Foram excluídos do estudo os recém-nascidos pré-termo que apresentassem qualquer um dos critérios descritos a seguir:

- RNs de mães sabidamente portadoras do vírus HIV;
- RNs de mães que chegaram ao CO do Hospital em período expulsivo e sem coleta de exames no pré-natal;
- RNs que apresentavam malformações graves e incompatíveis com a vida.

Do exame de função pulmonar foram excluídos os bebês que apresentavam síndromes e/ou malformações que pudessem interferir no exame.

5.4 Variáveis do estudo

As seguintes variáveis foram consideradas:

1. Corioamnionite (estudo histológico)
-

-
2. Tempo de ruptura de membranas (horas)
 3. Ventilação mecânica
 4. Uso de oxigenoterapia
 5. Índice de APGAR no primeiro e quinto minuto de vida.
 6. Sepsis precoce e sepsis tardia
 7. Doença da membrana hialina (DMH)
 8. Idade gestacional (IG)
 9. Peso ao nascimento (g)
 10. Relação entre o peso e idade gestacional
 11. Idade e raça materna
 12. Sexo (M/F)
 13. Doenças maternas (HAS, diabete)
 14. Uso de corticosteróide na gestação
 15. Fumo materno
 16. Infecção materna
 17. Dias de internação na UTIN
 18. Via de nascimento
 19. Pneumonia congênita
 20. Uso de corticosteróide pós-natal
-

21. Óbito

22. DBP

23. Parâmetros de Função Pulmonar (fluxos e volumes pulmonares):

- Capacidade Vital Forçada (CVF)

- Fluxos expiratórios (FEF₅₀, FEF₇₅, FEF₈₅ e FEF₂₅₋₇₅)

- Volume expiratório forçado em 0,5 segundo: VEF_{0,5}

5.4.1 Operacionalização das variáveis

A **idade gestacional** dos RNs foi estimada a partir dos dados maternos da data da última menstruação ou de ecografia obstétrica precoce (até 20 semanas de gestação). Quando estas se demonstravam imprecisas, foi utilizada a idade gestacional estimada por ecografia obstétrica tardia (a partir de 20 semanas de gestação) ou idade gestacional estimada pelo pediatra após o nascimento, através do método de New Ballard. [1]

Adequação do peso para a idade gestacional: O RN foi classificado em pequeno, adequado ou grande para a idade gestacional, segundo curvas de crescimento correntemente utilizadas. [2]

Infecção materna foi diagnosticada pelo médico obstetra e a informação foi retirada do prontuário materno. Foi caracterizada pela presença de dor em baixo ventre,

febre materna ou hemograma alterado, hemocultura positiva, infecção do trato urinário recente e uso de antibioticoterapia materna no período antenatal imediato.

O diagnóstico de doença da membrana hialina (DMH) foi realizado pela equipe médica assistente através de critérios clínicos, radiológicos, necessidade de oxigênio (fiO₂) acima de 40% e administração de surfactante.

Pneumonia congênita e sepse neonatais foram também definidas pela equipe assistente de acordo com os achados clínicos, radiológicos e culturais.

Displasia broncopulmonar foi definida como a necessidade de oxigênio suplementar com de 28 dias de vida juntamente com achados característicos ao raio-x de tórax. [3]

Os dados: idade e raça materna, fumo materno, uso de corticóide antenatal, doenças maternas, tempo de bolsa rota (em horas), via de nascimento, Apgar, peso de nascimento e sexo foram obtidos através de anotações na ficha de nascimento e entrevista com as mães. A raça materna foi diferenciada apenas em branca ou não branca de acordo com o fenótipo materno.

Dias em suporte ventilatório (ventilação mecânica e CPAP) e oxigenoterapia, uso de corticóide pós-natal, dias de internação na UTIN e óbito foram documentados através do registro médico em prontuário e do acompanhamento diário dos pacientes.

Corioamnionite foi definida histologicamente pela presença de ao menos um foco com 5 leucócitos polimorfonucleares em decídua – âmnio e/ou cório. [4] (Anexo 4)

Variáveis de desfecho:

Fluxos e volumes pulmonares: Essas variáveis foram medidas através dos testes de função pulmonar. Detalhes na página 65.

5.5 Obtenção das amostras do estudo

5.5.1 Placenta, cordão umbilical e membranas

Após o nascimento todas as placentas foram pesadas e examinadas a fresco. Foi realizada avaliação macroscópica de acordo com o protocolo em anexo (Anexo 3) e segmentação nas seguintes peças:

- 1) amostra de aproximadamente 4 cm de cordão umbilical de localização aleatória;
 - 2) amostra de aproximadamente 2 cm de cordão umbilical a 1cm da inserção no disco placentário;
 - 3) amostra retangular aleatório de membranas de aproximadamente 10x5cm;
 - 4) amostra triangular do disco placentário próximo à laceração das membranas;
 - 5) amostra retangular de cada um dos quadrantes do disco placentário.
-

O material foi fixado em solução de formol 10%, seccionado em porções de até 2 mm, lavados e desidratados em série alcoólica crescente até a concentração 100%, passando por banhos de xilol e parafina, procedimento realizado em processador de tecidos Leica Modelo TP 1020. Após, o material foi para etapa de emblocamento em parafina sob forma de fragmentos da placenta (5 peças), cordão umbilical (2 peças) e membranas (1 peça). Os blocos foram seccionados em micrótomo Leica modelo SM 2000R, com espessura de 5 μm e aderidos em lâminas para microscopia, previamente preparadas. Os cortes foram corados e cada lâmina foi examinada em microscópio óptico sendo realizada a análise microscópica histológica. Esta análise foi feita por uma médica patologista que não tinha conhecimento clínico dos pacientes.



Figura 2- Micrótomo Leica SM 2000R

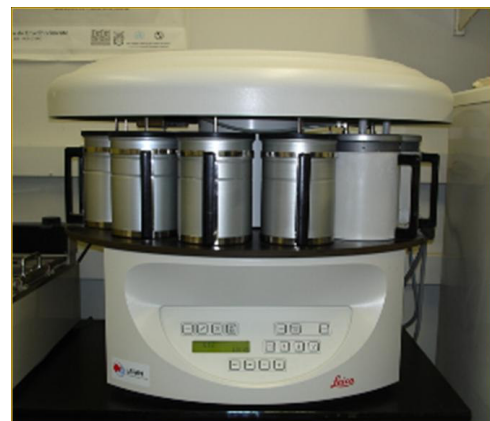


Figura 3- Processador de Tecidos Leica Modelo TP 1020

5.6 Seguimento clínico dos pacientes

As mães foram contatadas durante a permanência no hospital e solicitou-se a sua participação no estudo através do Consentimento Informado (Anexo 5). Para a coleta de dados foi utilizado um protocolo previamente desenvolvido (Anexo 1). Os dados foram coletados através de revisão dos prontuários dos pacientes e entrevistas com as mães. Os recém-nascidos que necessitaram internação na CTIN foram acompanhados diariamente pelo investigador principal para registro de dados e intercorrências ocorridas durante a internação. Durante este período, dados referentes à sua evolução foram coletados e registrados no protocolo de registro de dados.

Cerca de um a dois meses após a alta hospitalar, era realizado o primeiro contato telefônico com as mães para agendamento do seguimento no ambulatório e agendamento dos exames.

5.7 Realização dos testes de função pulmonar pela Técnica da Compressão Torácica Rápida

Os testes de função pulmonar dos lactentes foram realizados no Laboratório de Pediatria do Instituto de Pesquisas Biomédicas do Hospital São Lucas da PUC quando o paciente atingisse peso superior a 3,5 kg, após 40 semanas de idade gestacional pós-menstrual. Nos casos de infecções de vias aéreas superiores ou sibilância recentes, os

testes eram postergados pelo período de duas a três semanas após a criança estar assintomática.

5.7.1 Preparo do paciente

O lactente era inicialmente pesado em uma balança digital e a medida da saturação de hemoglobina era verificada com oxímetro de pulso. Após, os pacientes recebiam hidrato de cloral (50 a 80 mg/kg) por via oral, para indução da sedação, e eram encaminhados ao laboratório de função pulmonar para realização do exame. O comprimento era medido com um antropômetro. O paciente era colocado na mesa de exame em posição supina, e a jaqueta inflável era ajustada em volta do abdômen e do tórax, com pequena folga para não provocar qualquer restrição à inflação pulmonar. [5] Durante todo o período de exame o lactente era monitorizado com oxímetro de pulso. Uma máscara facial transparente com bordas de silicone era delicadamente colocada sobre a face do lactente, cobrindo a boca e o nariz. A região cervical era mantida em ligeira hiperextensão.

O ambiente era mantido em silêncio, com redução da luminosidade e com temperatura entre 20 e 25°C. Materiais para reanimação estavam disponíveis e os lactentes eram alimentados até no máximo duas horas antes do exame. [6]

5.7.2 Equipamento

O sistema de função pulmonar consiste basicamente de três sistemas:

- Aquisição e registro de sinais;
- Inflação pulmonar;
- Compressão torácica.

5.7.2.1 Sistema de aquisição e registro de dados

Compreende transdutores de pressão diferencial, amplificador, placa conversora analógica/digital e software.

A aquisição dos sinais de fluxo é feita através de um pneumotacógrafo de tela (*Hans Ruudolph, model 3700, Kansas City, MO*) conectado a um transdutor de pressão diferencial (-2 a +2 cmH₂O, *Validyne, Northridge, Califórnia*). O volume é obtido por integração do fluxo. A pressão na boca e na jaqueta são medidas com transdutores *Validyne* de pressão diferencial (0 a 60 cmH₂O e 0 a 150 cmH₂O respectivamente). Os sinais são amplificados (*MC1-10, Validyne, Northridge, Califórnia*), filtrados acima de 50Hz (*Validyne CD 19-A*) e enviados à placa conversora analógica digital (*Data Translation DT3001, Malboro, MA*). A amostragem é feita a 100 Hertz e os dados registrados em um banco de dados padrão ODBC (*Open DataBase Connectivity*). [7] O sistema de aquisição de sinais está esquematicamente representado na Figura 4.

O software foi desenvolvido no Laboratório de Função Pulmonar de Lactentes do Riley Hospital, Indianápolis, EUA. Este software processa e integra os sinais e apresenta, em tempo real, as curvas fluxo-volume. [7]

Aquisição de Sinais

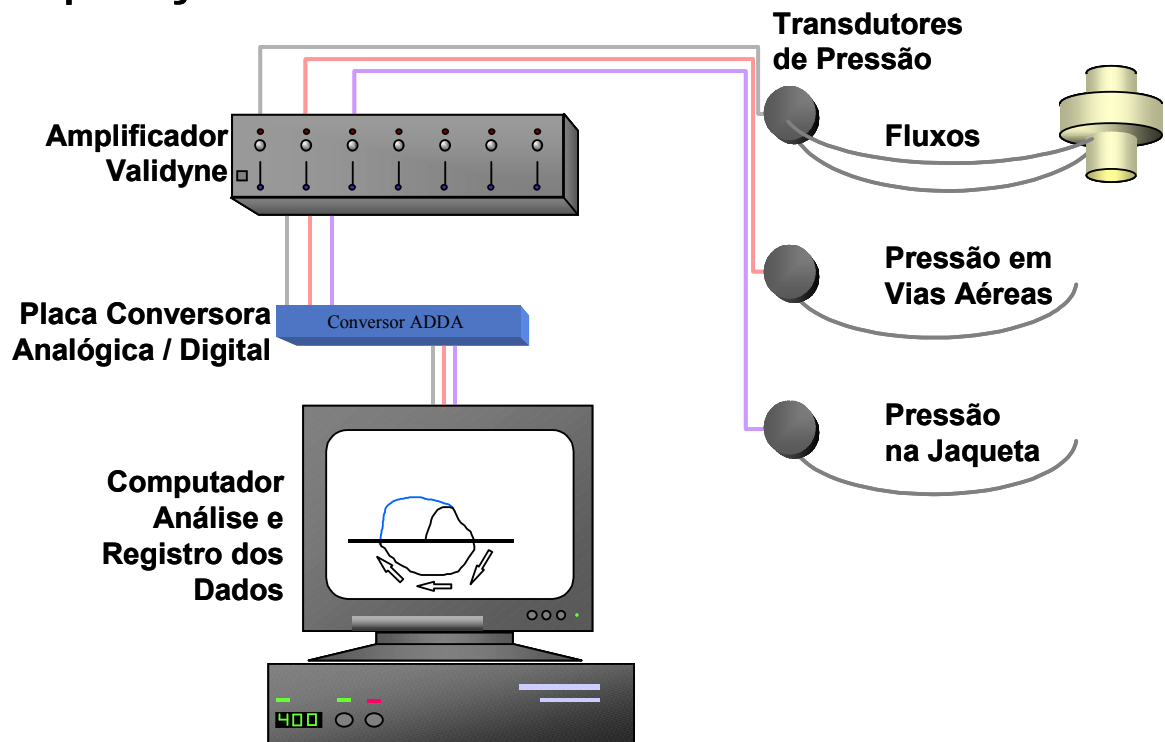


Figura 4 - Sistema de Aquisição de Sinais e Registro. Pressão e fluxo são convertidos em sinais elétricos, amplificados e convertidos em informação digital. Os dados são adquiridos com uma taxa de amostragem de 100 Hz e arquivados em um banco de dados de padrão ODBC.

5.7.2.2 Sistema de inflação pulmonar

É o sistema que controla o fluxo, a pressão e o volume do ar inspirado através de um sistema de tubos e válvulas. O circuito usado para a Inflação Pulmonar consiste

de fonte de ar comprimido, tubos, controlador eletrônico de válvulas, fluxômetro e válvula de segurança que limita a pressão a 30 cmH₂O. O fluxômetro era regulado de acordo com o pico de fluxo inspiratório do lactente e geralmente ajustado entre 15 e 20 litros por minuto. As quatro válvulas, controladas pelo computador, direcionam o fluxo de ar. A oclusão da válvula expiratória resulta em inflação do sistema respiratório. Ao final da inflação (percebida pelo software por fluxo inspiratório próximo de zero e pressão = 30 cmH₂O), a válvula era aberta e o lactente expirava passivamente. [7] Geralmente, várias inflações pulmonares (3 a 10) são necessárias para inibir o estímulo ventilatório em lactentes e permitir que a expiração forçada seja feita sem interrupções.[8] As várias insuflações induzem uma breve apneia através de dois mecanismos: a) queda na pCO₂ pelo aumento da ventilação; b) relaxamento da musculatura respiratória pela indução do reflexo de Hering-Bauer. Esta indução de apneia torna menos provável a ocorrência de um estímulo inspiratório durante a manobra de expiração forçada, o que interferiria nas medidas obtidas. [9]

5.7.2.3 Sistema de compressão torácica rápida (jaqueta inflável)

O sistema de compressão torácica regula a pressão aplicada no tórax e abdome do lactente. Consiste de uma fonte de ar comprimido, uma válvula reguladora de pressão, um reservatório de ar comprimido de 100 litros (capaz de suportar pressões de 150 cmH₂O), uma válvula controlada pelo computador, que conecta o reservatório de pressão à jaqueta, tubos e conexões apropriados e a jaqueta inflável. A pressão no

reservatório é ajustada manualmente antes de cada manobra. Após algumas inflações pulmonares, o técnico “autoriza” que, ao fim da próxima inflação, a pressão do reservatório seja transmitida à jaqueta através da abertura da válvula. A compressão torácica é iniciada, portanto, a um volume que equivale à pressão de 30 cmH₂O e mantida até o final da inspiração forçada (quando o fluxo expiratório aproxima-se de zero), quando a válvula é fechada e a jaqueta volta à pressão atmosférica encerrando a compressão torácica. A figura 5 apresenta os sistemas de inflação pulmonar e compressão torácica, ambos controlados pelo computador por meio de uma placa conversora digital-analógica, com resolução de 20 milisegundos. [7]

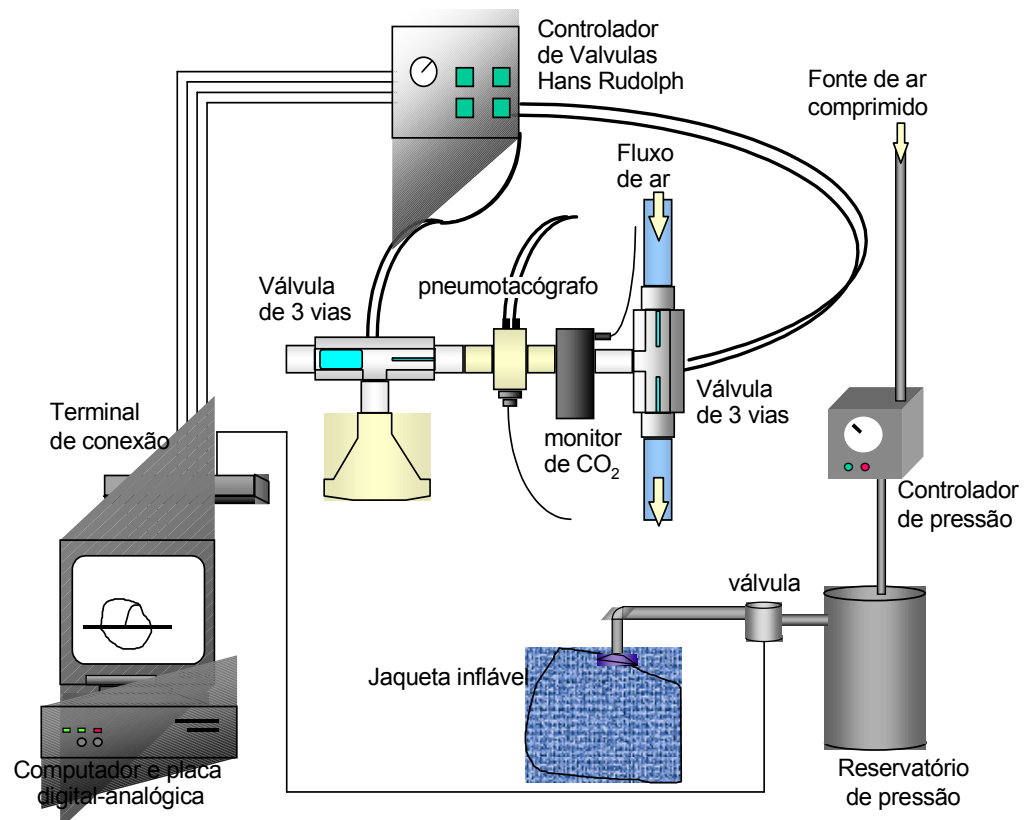


Figura 5 - Sistema de Inflação Pulmonar e Compressão Torácica. O sistema de inflação é controlado por quatro válvulas e ativado ao fim de cada expiração. Como o sistema recebe continuamente dados de fluxo e pressão, o algoritmo de decisão é totalmente controlado pelo software, baseado em sinais que caracterizam o início e o final de cada ciclo ventilatório. Ao final de uma inflação pulmonar, o técnico “autoriza” o sistema a realizar uma compressão torácica, que persistirá até o fim da expiração, ou seja, até que o fluxo expiratório seja igual a zero.

5.7.3 Manobras expiratórias forçadas

As Manobras Expiratórias Forçadas eram realizadas com sucessivas inflações pulmonares, feitas antes da expiração forçada com objetivo de inibir o impulso inspiratório durante a manobra e conseqüente interrupção da curva fluxo-volume. A expiração forçada iniciava em um volume pulmonar próximo à Capacidade Pulmonar

Total, (pressão da via aérea = 30cm H₂O, V₃₀) e continuava até o volume residual (VR). As manobras expiratórias forçadas eram repetidas com incrementos de 5 a 10 cmH₂O na pressão da jaqueta, partindo de pressões baixas (40 a 50 cmH₂O) até obterem-se fluxos máximos. O teste era encerrado ao atingir limitação de fluxo. [7]

Os critérios de fluxo máximo utilizados nesta pesquisa foram a obtenção de três curvas fluxo-volume visualmente idênticas com pressões de jaqueta que diferiam em pelo menos 10 cmH₂O. Entre as curvas tecnicamente aceitáveis, a curva com o mais alto produto entre CVF e Fluxo Médio-Expiratório Final (FM-EF) era escolhida como a melhor. Os critérios utilizados para considerar uma curva como tecnicamente aceitável foram os seguintes: a) elevação rápida do fluxo, atingindo o *peak-flow*; b) ausência de ruídos no sinal, especialmente na segunda metade da curva expiratória; c) término suave e sem inspiração durante a expiração forçada. [7]

Os pacientes permaneciam monitorizados durante a realização do exame. Ao final do teste, a criança era despertada e permanecia sob supervisão médica até que o grau de consciência fosse considerado normal.

5.7.4 Variáveis estudadas no teste de função pulmonar

Os fluxos expiratórios forçados em 50, 75 e 85% representam o fluxo de ar instantâneo (calculado por interpolação linear) na respectiva fração da Capacidade Vital Forçada. O volume foi obtido por integração digital do fluxo e ambos eram apresentados

na tela do computador em tempo real e guardados em arquivo de banco de dados para análise posterior.

Foram consideradas as seguintes variáveis:

- Capacidade Vital Forçada - CVF (mL): Volume total de ar expirado pela compressão torácica após inflação pulmonar com pressão de 30 cmH₂O.
- Volume Expiratório Forçado em 0,5 segundo – VEF_{0,5} (mL): Volume de ar expirado pela compressão torácica em 0,5 segundo.
- Fluxo Expiratório Forçado em 50% da Capacidade Vital – FEF₅₀ (mL/s): Fluxo instantâneo em 50% da CVF durante a expiração forçada.
- Fluxo Expiratório Forçado em 75% da Capacidade Vital – FEF₇₅ (mL/s): Fluxo instantâneo em 75% da CVF durante a expiração forçada.
- Fluxo Expiratório Forçado em 85% da Capacidade Vital – FEF₈₅ (mL/s): Fluxo instantâneo em 85% da CVF durante a expiração forçada.
- Fluxo Médio-Expiratório Forçado – FM-EF ou FEF₂₅₋₇₅ (mL/s): fluxo médio na porção central da expiração forçada, obtido pela razão entre o volume e o tempo entre 25 e 75% da CVF.
- FEV_{0,5}/FVC – Relação entre o volume de ar expirado pela compressão torácica em 0,5 segundo e a capacidade vital focada deste mesmo pulmão.

Os valores de referência da normalidade utilizados foram previamente descritos na literatura, obtidos a partir de 155 lactentes norte-americanos normais a termo. [7]

5.8 Análise estatística

Os dados obtidos foram acrescentados ao banco de dados criado em Excel e as análises foram feitas utilizando o pacote estatístico SPSS versão 15 para Windows (SPSS®, Chicago). As variáveis quantitativas foram descritas através de média e desvio padrão (ou mediana, caso a distribuição não seja normal). Os dados qualitativos foram apresentados através de frequências e percentuais. Comparações entre dois grupos foram feitas pelo teste t de Student, teste X^2 ou Exato de Fischer. As variáveis de função pulmonar foram comparadas, após ajuste para fatores de confusão, através da regressão linear múltipla. Além disso, este teste foi também utilizado para avaliar o impacto dos fatores perinatais nos parâmetros de função pulmonar. Corioamnionite, raça, necessidade de oxigênio, sexo, idade gestacional, peso de nascimento, fumo durante a gravidez foram usados como variáveis independentes. As variáveis de função pulmonar (capacidade vital e fluxos expiratórios máximos) foram usadas como variáveis dependentes neste modelo.

Os valores absolutos das variáveis do teste de função pulmonar foram transformados em escore Z. Diferenças foram consideradas significativas se $p < 0,05$.

5.9 Ética

O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital São Lucas da PUCRS. Os responsáveis pelos pacientes foram amplamente informados dos objetivos do estudo, da metodologia aplicada e seus riscos, através de entrevista com a pesquisadora e por um documento (consentimento informado) em anexo (Anexo 5).

Em relação ao teste de função pulmonar, o método de compressão torácica tem sido utilizado em vários centros clínicos e de pesquisa do mundo, mesmo em prematuros. [10] O principal risco do exame é a sedação com hidrato de cloral. As complicações não são comuns, e podem incluir náuseas, vômitos, sonolência excessiva e inquietação. [11]

6 BIBLIOGRAFIA

- [1] Ballard JL, Khoury JC, Wedig K, Wang L, Eilers-Walsman BL, Lipp R. New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants. *J Pediatr*. 1991 Sep;119(3):417-23.
 - [2] Fenton TR. A new growth chart for preterm babies: Babson and Benda's chart updated with recent data and a new format. *BMC Pediatr*. 2003 Dec 16;3:13.
 - [3] Bancalari E, Abdenour GE, Feller R, Gannon J. Bronchopulmonary dysplasia: clinical presentation. *J Pediatr*. 1979 Nov;95(5 Pt 2):819-23.
 - [4] Salafia CM, Weigl C, Silberman L. The prevalence and distribution of acute placental inflammation in uncomplicated term pregnancies. *Obstet Gynecol*. 1989 Mar;73(3 Pt 1):383-9.
 - [5] Turner DJ, Stick SM, Lesouef KL, Sly PD, Lesouef PN. A new technique to generate and assess forced expiration from raised lung volume in infants. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995 May;151(5):1441-50.
-

-
- [6] Gaultier C, Fletcher ME, Beardsmore C, England S, Motoyama E. Respiratory function measurements in infants: measurement conditions. Working Group of the European Respiratory Society and the American Thoracic Society. *Eur Respir J*. 1995 Jun;8(6):1057-66.
- [7] Jones M, Castile R, Davis S, Kisling J, Filbrun D, Flucke R, et al. Forced expiratory flows and volumes in infants - normative data and lung growth. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161:353-9.
- [8] Feher A, Castile R, Kisling J, Angelicchio C, Filbrun D, Flucke R, et al. Flow limitation in normal infants: a new method for forced expiratory maneuvers from raised lung volumes. *J Appl Physiol*. 1996 Jun;80(6):2019-25.
- [9] The raised volume rapid thoracoabdominal compression technique. The Joint American Thoracic Society/European Respiratory Society Working Group on Infant Lung Function. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 May;161(5):1760-2.
- [10] Hoo AF, Dezateux C, Henschen M, Costeloe K, Stocks J. Development of airway function in infancy after preterm delivery. *J Pediatr*. 2002 Nov;141(5):652-8.
- [11] Pershad J, Palmisano P, Nichols M. Chloral hydrate: the good and the bad. *Pediatr Emerg Care*. 1999 Dec;15(6):432-5.
-

CAPÍTULO III

Artigo Original

Chorioamnionitis and Subsequent Lung Function in Preterm Infants

Andréa L. Corso, MD PhD¹; Robert S. Tepper, MD PhD²; Renato T. Stein, MD PhD¹ ;
Maria Isabel Albano Edelweiss, MD PhD³; Luciana Friedrich, MD PhD³; Paulo M. C. Pitrez, MD
PhD¹; Marcus H. Jones, MD PhD¹.

¹Biomedical Research Institute, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brazil IPB PUCRS

² Department of Pediatrics, James Whitcomb Riley Hospital for Children, Herman B. Wells Center for Pediatric Research, Indiana University, Indianapolis, Indiana, United States

³Pathology Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

Correspondence:

Marcus Herbert Jones, MD, PhD

Instituto de Pesquisas Biomédicas

Laboratório de Respirologia Pediátrica

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Porto Alegre, Brazil

+55 51 3384-5104

mhones@pucrs.br

Source of Funding: CNPq, CAPES and FAPERGS

Manuscript formatted for the *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine*

“At a Glance Commentary”

Scientific knowledge on the subject:

There are conflicting clinical data on the association between chorioamnionitis and the development of BPD. There are no physiological studies on the effect of chorioamnionitis on lung function in humans.

What this study adds to the field:

Exposure to chorioamnionitis was associated with the development of clinical BPD and lower flows in female preterm infants. Our findings suggest a gender specific effect of infection and inflammation on lung development.

Conflict of Interest Statement: None of the authors has a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript.

Abstract

Objective: To analyze the association between histologically-diagnosed chorioamnionitis (HCA) and lung function measured in the first months of life for infants born before term.

Patients and methods: Premature infants (aged less than 37 weeks of gestation) were recruited. Placenta and membranes were collected during delivery and evaluated for HCA. Lung function was performed in the first months of life by the Raised Volume-Rapid Thoracic Compression Technique (RV-RTC).

Results: One hundred seventy one premature infants were enrolled in this study. Placenta and membranes were successfully collected in 161 subjects. 96 infants had both lung function tests and histologic assessment of chorioamnionitis. There was a significant association between HCA and BPD (Chi-square 6.708, $p=0.005$), and mechanical ventilation (Chi-square 4.414, $p=0.027$). There was a significant reduction in expiratory flows in the overall tested premature infants, with FVC values within the normal range. Lower lung function was associated with male sex and prematurity. HCA was significantly associated with lower expiratory flows among female preterm infants. ($p<0.05$ for FEF₅₀, FEF₇₅, FEF₂₅₋₇₅ and FEV_{0.5})

Conclusions: There were significantly more subjects with BPD among preterm infants diagnosed with HCA when compared to those without signs of infection. Moreover, our data shows a reduction in maximal expiratory flows in female preterm infants exposed to HCA, an effect not observed in males. These results imply a gender-specific negative effect of inflammation on the development of the lung of these females. This study confirms and expands the concept of a previously described association between chorioamnionitis and early life chronic lung disease.

Key words: Chorioamnionitis; lung function; prematurity; lung growth

Introduction

Bronchopulmonary dysplasia (BPD) is the extreme end of a wide spectrum of lung damage and arrested lung development secondary to prematurity, mechanical ventilation, exposure to high concentrations of oxygen, pre and postnatal infections, among many other risk factors proposed. [1, 2] The concept of exposure of fetal lung to infection and inflammation promoting accelerated maturation and parallel development of chronic lung disease of prematurity has been previously discussed in a number of studies. [3-7]

Many studies have used animal models of intrauterine infection, to look at the impact of inflammation on lung maturation, alveolarization and the subsequent development of chronic lung disease of prematurity. [8-13] These investigations uniformly point to a direct relation between inflammation and arrested lung development and BPD.

In humans, several studies have shown an increased incidence of histological chorioamnionitis (neutrophilic infiltration of membranes, HCA) [14-16] or systemic inflammatory response [17-19] in preterm newborns that later develop BPD.

Instead, other authors have not found such a clear association between infection and BPD. Kent et al[20] found no significant association between HCA and BPD, gender, mechanical ventilation in 241 preterm infants born with less than 30 weeks gestational age. The only factor associated to HCA in this sample was gestational age. In the largest epidemiologic study published so far, Andrews et al was also unable to detect an association between histological chorioamnionitis in 446 preterm infants delivered before 32 weeks of gestational age. [21]

One potential explanation for the discrepancies is the BPD endpoint itself, which is physiologically ill-defined and probably does not represent the true effect of prematurity and inflammation in the developing lung. [22] It is possible that with a more sensitive physiological assessment of the respiratory system the role of intrauterine inflammation for the development of chronic lung disease of prematurity could be better understood.

Considering that BPD usually expressed, show present as a severe obstructive disorder, both clinically and in functional assessment in specialized laboratories [23-25], we hypothesized that measurements of maximal expiratory flows would be reduced in preterm infants exposed to chorioamnionitis and that this effect would not be restricted to newborns at risk to develop BPD.

The aim of this study was to examine the association between histological chorioamnionitis and lung function in preterm infants. This data has been presented in abstract format. [26]

Material and Methods

Consecutive premature infants (less than 37 weeks gestational age) were recruited from Hospital São Lucas, Porto Alegre, Brazil, between June 2004 and April 2005. Gestational age was assessed by the date of last menstrual period, ultrasound or clinical assessment by a neonatologist. [27] Subjects with congenital malformations and HIV were excluded from the study.

The preterm infants were followed during the entire period in the neonatal intensive care unit (NICU). All NICU procedures and events were recorded prospectively by one of the investigators (A.L.C.). Respiratory distress syndrome (RDS) was defined as a newborn with clinical and radiological characteristics of RDS requiring a fraction of inspired oxygen above 0.4 and surfactant administration. BPD was defined as supplemental oxygen requirement at 28 days of life and radiological abnormalities.

Histologic Chorioamnionitis (HCA)

Five tissue samples were obtained from each placenta (including umbilical cord, membranes and chorionic plate), fixed with 10% buffered formalin, embedded in paraffin and tissue block and stained with hematoxylin and eosin. Histologic examination was performed by a pathologist who was blinded to the clinical information (M.I.E.). Histologic chorioamnionitis was defined as the presence of 5 or more polymorphonuclear leukocytes per field in one area of deciduas, amnion or chorion, as described previously [28]

Lung Function Test

Lung function testing was assessed by the RV-RTC technique, after sedation with chloral hydrate (50–80mg/kg), as previously published. [29]. Lung function tests were performed after 40 weeks of postconceptional age, in the first year of life. Infants were weighed, measured, and set in supine position, with an inflatable jacket wrapped around their abdomen and chest. All infants were tested at least 60 min postprandially to reduce the effect of gastric contents on lung volume. A pulse oxymeter monitoring was used during the tests. A face mask was positioned over the infant's face, covering mouth and nose, and the cervical region was maintained in an over extended position.

Lung inflation pressure was set at 30 cm H₂O and, at this point, thoracic compression was initiated and maintained until residual volume was reached. Forced expiratory maneuvers were repeated with increases of 5 to 10 cm H₂O in jacket pressure until maximum expiratory flows were obtained. The best curve was selected as that with the highest product of FVC and FEF_{25–75}.

Statistical Analysis

Statistical analysis of the data was performed using the statistical program SPSS version 15 (SPSS, Inc., Chicago, IL). Quantitative and qualitative variables were described, respectively, through means/SD and frequencies/percentiles. Group characteristics were compared by t tests and exact tests. The lung function variables were compared after allowing for covariates by multiple linear regression analysis. In addition, multiple regression analysis was also used to evaluate the impact of perinatal factors in the lung function parameters. Race, smoking during pregnancy, oxygen requirement, steroid use, gestational age, intrauterine growth retardation,

sex, length and weight at test date were used as independent variables. Additionally an interaction term between gender and chorioamnionitis was included in the model. Intrauterine growth retardation (IUGR) was defined by birth weight below the 10th percentile for gestational age. [30]

Lung function variables were also expressed as a z score using the published regression equation [31].

For all statistical analysis p-values below 0.05 were considered significant.

The ethics committee of the Institution approved the study and informed, written consent was obtained from all parents.

Results

Study Population

One hundred seventy one premature infants were enrolled in this study. Placenta and membranes were successfully collected in 161 subjects. Lung function was obtained in 105 subjects in the first months of life by the raised volume-rapid thoracic compression. Lung function was not obtained in 66 subjects due to neonatal death (n=5), exclusions (n=6), loss of contact for follow-up (n=19) and refuse to perform lung function testing (n=36). The characteristics of the 171 subjects are presented in table 1.

Chorioamnionitis (HCA)

Tissue samples for histologic examination were obtained from 161 subjects (84 males). Chorioamnionitis was diagnosed in 112 (65%) samples. Chorioamnionitis was more common in the low birth weight newborns, detected in 86/131 (66%) of the newborns with birth weight above 1500g, and in 26/30 (87%) of those born below 1500g. There were no significant associations between chorioamnionitis and race, sex, intrauterine growth retardation, and smoking exposure during pregnancy.

Chorioamnionitis was detected in 22/26 (85%) of those preterm infants that developed respiratory distress syndrome (RDS) and in 90/135 (50%) of those that did not developed RDS. This higher proportion of chorioamnionitis did not reach statistical significance (Chi-square 3.317, p=0.051)

We also found a significant association between chorioamnionitis and BPD. All 14 subjects that developed BPD had chorioamnionitis. In those that did not developed BPD 98/147

(66%) had chorioamnionitis. (Chi-square 6.708, $p=0.005$) The significance of the association is maintained even if the analysis is limited to the 49 infants with gestational age below 33 weeks. (Chi-square 5.674, $p=0.014$)

Chorioamnionitis was also strongly associated with mechanical ventilation. Of the 15 newborns that required ventilatory support, 14 (93%) had chorioamnionitis. (Chi-square 4.414, $p=0.027$) All 12 patients that received mechanical ventilation for more than 7 days had chorioamnionitis. (Chi-square 5.673, $p=0.011$) The association with patent ductus arteriosus (PDA) was also significant: 17/18 (94%) had chorioamnionitis. (Chi-square 5.925, $p=0.009$)

Lung Function Tests

Lung function tests were successfully obtained in 105 preterm infants (49 males) corresponding to 61% of the original sample. The gestational age of the tested subjects ranged from 24 to 36.8 weeks, with a mean gestational age of 33.4. The subjects were tested between 4.2 and 70.4 weeks corrected age with a mean age of 21.9 weeks. There were no significant difference between those that had lung function tests and those that had not lung function measurements in terms of age, gender, smoking exposure, race, incidence of RDS and BPD. (see online supplement Table E1) A summary of the anthropometric and lung function data obtained are shown on Table 2. There was a significant reduction in expiratory flows in the premature infants tested, with FVC in the normal range. (see online supplement figures E1-E8) There was an improvement in lung function with increasing gestational age. (Figure 1)

Multivariate analysis

In the multivariate model, adjusting for known factors as length, gestational age and smoking exposure during pregnancy, male preterm infants had significantly lower expiratory flows when compared to female preterm infants. Male preterm infants had an average reduction of 112mL/s (22%) in FEF₅₀, 70mL/s (30%) for FEF₇₅ and 102mL/s (24%) for FEF₂₅₋₇₅ and 19mL (9%) for VEF_{0.5}. There was no difference in FVC between male and female subjects. We did not find any effect of race, smoking exposure during pregnancy and IUGR on lung function.

The effect of chorioamnionitis on lung function was also analyzed in the multivariate model after adjusting for length, gender, gestational age, and smoke exposure during pregnancy. After adjustment, chorioamnionitis was not significantly associated in these models with volume and flow variables.

However, a stratified by gender multivariate analysis (males, n=45 and females, n=51) showed that among males maximal expiratory flows were significantly associated with length and gestational age. For females, length and HCA were the only significant predictive variables in the flow models.

In order to properly test the effect of chorioamnionitis in female preterm infants we added an interaction term in the statistical model (sex*HCA) for data analysis of the 96 infants with information of lung function testing and HCA. The interaction between female sex and HCA was significant in the model for all flow variables, but not for FVC (see online supplement

Table E2). A summary of the effects of the interaction between female sex and chorioamnionitis is shown in Table 3. See also online supplement Figures 9 and 10.

Discussion

This is the first study to analyzing the effect of chorioamnionitis on early life measures of lung function of preterm infants. Our data show a negative effect of chorioamnionitis on lung function in female premature infants, but not in males. Male preterm infants, as previously reported have lower expiratory flows, equivalent to a preterm female born at four weeks earlier. [32] However, our data suggests that female preterm infants, when exposed to chorioamnionitis lose their natural ventilatory-born advantage over male preterm infants, and this may be the novel, and single most important observation of this report.

The magnitude of the effect of chorioamnionitis in maximal flows is not small; we observed a reduction of 15 to 20% in FEF₅₀, FEF₇₅, and FEF_{25.75} in females exposed to intrauterine inflammation. This finding offers additional information on the role of inflammation in the development of chronic lung disease of prematurity and may improve our understanding on the variability of lung function in preterm infants. The reasons for this selective negative effect on females, and why males would be protected from inflammation are yet unknown.

The study was conducted at a single center, and the premature infants were recruited while in the neonatal unit. The infants described in this study are representative of preterm infants born in a public referral hospital in Brazil. The study design included all preterm infants and not only those at high risk of developing BPD, i.e., all those born with less than 32 weeks of

gestational age. This strategy allowed a small number of very low birth weight infants that would potentially have lower lung function. The consecutive recruitment of preterm infants favors, on average, better lung function and probably close to normal, as we have previously demonstrated. [32] One potential advantage of this design is the possibility to analyze the effect of intrauterine infection on late preterm infants, a group that have received little attention so far. [33]

We found a large number of subjects exposed to chorioamnionitis in our sample (65%). This could be a result of lower social conditions, poor health care, race (we have 40% black/mixed black in our sample), as previously reported. [21, 34] The definition for inflammation criteria used in this study, of 5 or more polymorphonuclear leukocytes per high-powered field may be considered a “low threshold”, and this fact could also increase the diagnosis of HCA. It has been demonstrated that HCA diagnosis is strongly influenced by the definition adopted and also by exclusion criteria and ethnicity. [35] Using a similar criteria to the one inform our study, Holzman et al analyzing the placenta from full term infants reported HCA in 54-76% of term placentas among Caucasians and in 64-85% of African-American term placentas. [35] In our study the increased incidence of HCA could reduce its usefulness and significance in the statistical models used, and would favor the null hypothesis. This was not observed, and HCA was strongly associated with reduced lung function in females, both in the multivariate analysis and in the interaction analysis.

Chorioamnionitis and BPD association: Although this study was not intended to analyze the association between chorioamnionitis and BPD, the observation that all subjects that

developed BPD also had chorioamnionitis supports the proposed hypothesis of intrauterine inflammation as an important step in the path to chronic lung disease of prematurity. [14-16] However due to the small number of patients affected by BPD in this study, this finding may not be conclusive.

We did not find a protective effect of chorioamnionitis on RDS, as reported in previous publications. [14, 21, 36, 37] Actually, in our sample, there was a trend ($p=0.051$) to increase RDS in preterm infants exposed to HCA. The same increase in RDS in preterm infants exposed to chorioamnionitis was reported by Lau et al[38] in a large sample of preterm infants and by Ramsey et al[39] in preterm newborns with premature rupture of membranes. The discrepancies may arise from different diagnostic criteria for HCA and RDS used in these studies and potential clinical overlap of RDS with other neonatal respiratory problems as congenital pneumonia and sepsis that was also associated with HCA in our study (data not shown).

Another interesting finding was the association of HCA and mechanical ventilation. All newborns ventilated for more than 7 days had HCA. This observation was previously reported by Van Marter et al[40] and Mu et al[16] and our present data offers additional support for this hypothesis. The observation of increased RDS and mechanical ventilation in our study conflict with the concept of accelerated maturation and increased survival in preterm infants exposed to HCA. [4, 41]

As one would expected, based on previous data, preterm infants have lower expiratory flows when matched to predicted normal values, yet maintaining normal FVCs. Interestingly, the impact of chorioamnionitis and gestational age was different in males and females. We had

previously reported a wide gap in lung function, with males showing significantly lower expiratory flows than females, in premature infants with gestational age between 29 to 35 weeks. [32] Our present data confirmed the reduced flows of preterm infants and the disadvantage of male subjects in comparison to females, consistent with previous publications on the effects of gestational age and gender on lung function in preterm infants [32, 42].

These findings of low expiratory flows combined with normal FVC suggest airflow obstruction, consistent with measurements made later in life during childhood, adolescence and adulthood. [2] These findings may indicate an important mechanistic role of smaller or more compliant airways, increased bronchial tone or lower elastic recoil. Recently, this question was addressed in a morphometric study in airways obtained from 5 BPD infants. Its results suggest that BPD infants have increased thickness of the airway wall components and that this abnormality could contribute to the observed airflow obstruction. [43] One of the main structural characteristics of the new BPD is reduced alveolar development. [2] The physiological and clinical consequences depend on the intensity of this disruption of normal lung growth. Patients with BPD will have fewer and larger alveoli and increased interstitial airway thickening. [44] These structural changes translate into a substantial reduction in the surface area for gas exchange, and also in loss of elastic recoil. Measures of alveolar surface in infants are still in development and in this study we only analyzed expiratory flows and volume. Loss of elastic recoil and airway inflammation in variable degrees are probable causes for the observed lower flows in preterm infants.

From our cross-sectional data, the effect of HCA on lung growth cannot be estimated. Due to the high colinearity between length and age, an improvement in lung function with age is not possible to evaluate with the present data and it would require longitudinal assessment. However, we have previously reported no catch-up in lung function in preterm infant, at least in the first years of life. [45] However, histological assessment was not included in that longitudinal study. It would be interesting to analyze the rate of lung growth in infants exposed to HAC and its relation to gestational age and gender, and particularly the long term impact on lung development and airway disability.

The main limitation of this study is the lack of a satisfactory marker for duration and intensity of the inflammatory exposure. The intensity of neutrophilic infiltration at the delivery cannot be used to estimate for how long or how severe the infection was in the past. The histological findings obtained are poor descriptors of the intrauterine milieu and lung fetal exposure. [4] Additionally, we do not know the infectious agents involved in the infection, which probably is important as different organisms may evoke immune responses that differ in intensity and time. Another weakness of the study is that we have a single measurement made in a wide range of ages, from 4 to 70 weeks. This allow for an increased variability due to additional "hits", as lower respiratory infections and other harmful events that may occur after birth and before lung function test. Still, this limitation would also favor the null hypothesis as it would tend to dilute the effects of the prenatal and early postnatal events. Nevertheless, the result of exposure to intrauterine infection and/or inflammation was still detectable in females. It is possible that with a more standardized protocol and a best selected sample of preterm

infants the significance and magnitude of HCA effect on lung development in early life would be different and possibly higher.

In summary, our study presented original data on the association between HCA and lung function measured in the first year of life, assessed by the RV-RTC technique in preterm infants. We have found an increase in BPD in preterm infants exposed to HCA. Moreover, our data suggest a reduction in maximal expiratory flows in female preterm infants exposed to HCA, an effect not observed in males. These results imply in a selective negative effect of inflammation on the development of the lung in female preterm infants. This study, confirms in part the previously described association between chorioamnionitis and chronic lung disease of prematurity.

*Tables***TABLE 1. CHARACTERISTICS OF THE SUBJECTS**

Characteristics	N=171
Male	88(51.5%)
Caucasian	94(55%)
Smoking during pregnancy	35(20.5%)
Intrauterine growth retardation	21(12.3%)
Respiratory Distress Syndrome	26(15.2%)
Early onset sepsis	51(29.8%)
Patent Ductus Arteriosus	18(10.5%)
Vaginal delivery	76(44.4%)
Bronchopulmonary dysplasia	14(8.2%)
Antenatal corticosteroid use	68(39.8%)
Gestational age (weeks)	33.4(3.1)
Age of the mother (years)	25(7.5)
Birth weight (g)	2104(695)
Supplemental oxygen	56(33%)
Mechanical ventilation	29(17%)

Results expressed as number(%) or mean(SD)

TABLE 2. ANTROPOMETRIC DATA AND LUNG FUNCTION ON TEST DATE

	N=105
Age (corrected, weeks)	21.9 ± 11
Weight (kg)	6.3 ± 1.9
Length (cm)	61.0 ± 6.0
FVC	0.29 ± 0.92
FEF ₅₀	-0.82 ± 1.55
FEF ₇₅	-0.88 ± 1.73
FEF ₂₅₋₇₅	-1.02 ± 1.72
FEV _{0.5}	-0.18 ± 1.10
FEV _{0.5} /FVC	-0.88 ± 1.43

Lung function tests expressed as Z-scores according to published reference values. [31]

TABLE 3. EFFECT OF HISTOLOGIC CHORIOAMNIONITIS IN LUNG FUNCTION VARIABLES STRATIFIED BY GENDER

	Male			Female			<i>p</i>
	No chorio	Chorio	Difference	No chorio	chorio	Difference	
FVC	242±10	234±6	-8	248±9	232±6	-16	0.624
FEF ₅₀	339±32	403±19	65	555±27	472±19	-83	0.004
FEF ₇₅	127±24	170±14	43	267±20	211±14	-56	0.007
FEF ₂₅₋₇₅	283±32	340±19	56	486±26	400±18	-85	0.004
FEV _{0.5}	172±9	179±5	7	211±7	189±5	-22	0.033
FEV _{0.5} /FVC	0.75±0.02	0.78±0.01	0.03	0.86±0.02	0.82±0.01	-0.036	0.046

Lung function in males and females with and without chorioamnionitis after adjustment for length, gestational age and smoking exposure presented as mean (SD). The *p* value refers to the comparison between males and females in regard to the difference in the effect of chorioamnionitis. Females had a significant negative effect of chorioamnionitis in all variables except FVC. This effect was not observed in males.

Figures

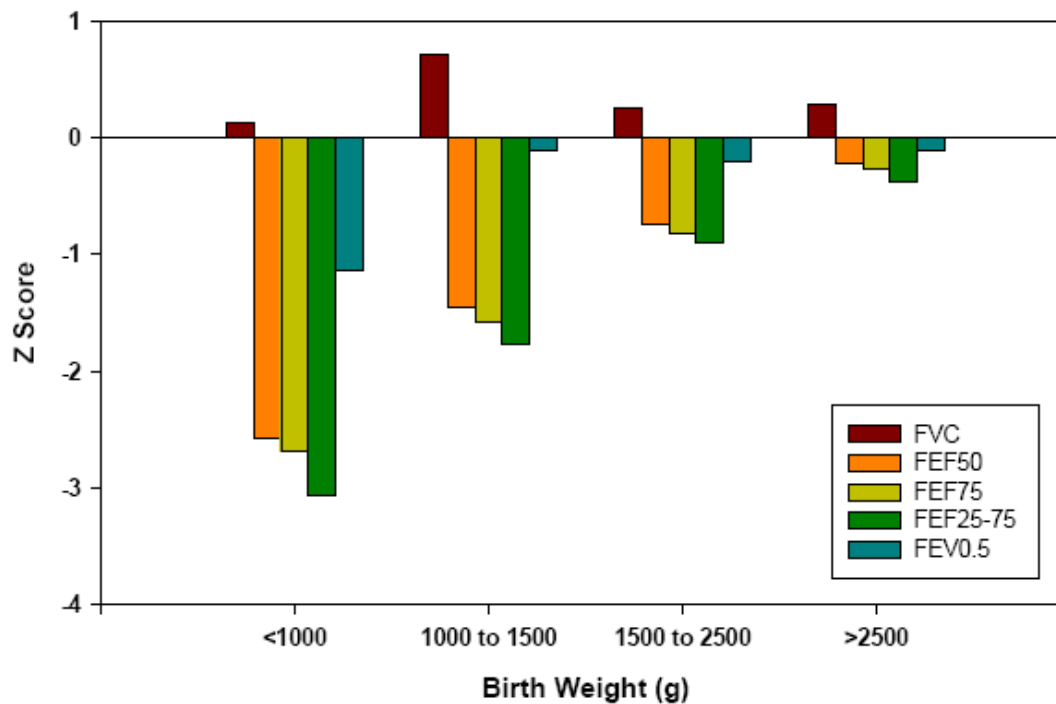


Figure 1. Lung function test, presented as Z Scores, by birth weight class in 105 preterm infants.

References

- [1] Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *The New England journal of medicine*. 2000 May 18;342(20):1500-7.
 - [2] Baraldi E, Filippone M. Chronic lung disease after premature birth. *The New England journal of medicine*. 2007 Nov 8;357(19):1946-55.
 - [3] Kramer BW. Antenatal inflammation and lung injury: prenatal origin of neonatal disease. *J Perinatol*. 2008 May;28 Suppl 1:S21-7.
 - [4] Kramer BW, Kallapur S, Newnham J, Jobe AH. Prenatal inflammation and lung development. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2008 Oct 7.
 - [5] Maxwell NC, Davies PL, Kotecha S. Antenatal infection and inflammation: what's new? *Curr Opin Infect Dis*. 2006 Jun;19(3):253-8.
 - [6] Kallapur SG, Jobe AH. Contribution of inflammation to lung injury and development. *Archives of disease in childhood*. 2006 Mar;91(2):F132-5.
 - [7] Speer CP. Inflammation and bronchopulmonary dysplasia: a continuing story. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2006 Oct;11(5):354-62.
 - [8] Kallapur SG, Bachurski CJ, Le Cras TD, Joshi SN, Ikegami M, Jobe AH. Vascular changes after intra-amniotic endotoxin in preterm lamb lungs. *American journal of physiology*. 2004 Dec;287(6):L1178-85.
 - [9] Kallapur SG, Nitsos I, Moss TJ, Kramer BW, Newnham JP, Ikegami M, et al. Chronic endotoxin exposure does not cause sustained structural abnormalities in the fetal sheep lungs. *American journal of physiology*. 2005 May;288(5):L966-74.
 - [10] Kallapur SG, Willet KE, Jobe AH, Ikegami M, Bachurski CJ. Intra-amniotic endotoxin: chorioamnionitis precedes lung maturation in preterm lambs. *American journal of physiology*. 2001 Mar;280(3):L527-36.
 - [11] Kunzmann S, Speer CP, Jobe AH, Kramer BW. Antenatal inflammation induced TGF-beta1 but suppressed CTGF in preterm lungs. *American journal of physiology*. 2007 Jan;292(1):L223-31.
 - [12] Kramer BW, Kramer S, Ikegami M, Jobe AH. Injury, inflammation, and remodeling in fetal sheep lung after intra-amniotic endotoxin. *American journal of physiology*. 2002 Aug;283(2):L452-9.
 - [13] Willet KE, Kramer BW, Kallapur SG, Ikegami M, Newnham JP, Moss TJ, et al. Intra-amniotic injection of IL-1 induces inflammation and maturation in fetal sheep lung. *American journal of physiology*. 2002 Mar;282(3):L411-20.
-

- [14] Watterberg KL, Demers LM, Scott SM, Murphy S. Chorioamnionitis and early lung inflammation in infants in whom bronchopulmonary dysplasia develops. *Pediatrics*. 1996 Feb;97(2):210-5.
- [15] Viscardi RM, Muhumuza CK, Rodriguez A, Fairchild KD, Sun CC, Gross GW, et al. Inflammatory markers in intrauterine and fetal blood and cerebrospinal fluid compartments are associated with adverse pulmonary and neurologic outcomes in preterm infants. *Pediatric research*. 2004 Jun;55(6):1009-17.
- [16] Mu SC, Lin CH, Chen YL, Ma HJ, Lee JS, Lin MI, et al. Impact on neonatal outcome and anthropometric growth in very low birth weight infants with histological chorioamnionitis. *Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi*. 2008 Apr;107(4):304-10.
- [17] Yoon BH, Romero R, Kim KS, Park JS, Ki SH, Kim BI, et al. A systemic fetal inflammatory response and the development of bronchopulmonary dysplasia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1999 Oct;181(4):773-9.
- [18] Yoon BH, Jun JK, Romero R, Park KH, Gomez R, Choi JH, et al. Amniotic fluid inflammatory cytokines (interleukin-6, interleukin-1beta, and tumor necrosis factor-alpha), neonatal brain white matter lesions, and cerebral palsy. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1997 Jul;177(1):19-26.
- [19] Munshi UK, Niu JO, Siddiq MM, Parton LA. Elevation of interleukin-8 and interleukin-6 precedes the influx of neutrophils in tracheal aspirates from preterm infants who develop bronchopulmonary dysplasia. *Pediatric pulmonology*. 1997 Nov;24(5):331-6.
- [20] Kent A, Dahlstrom JE. Chorioamnionitis/funisitis and the development of bronchopulmonary dysplasia. *J Paediatr Child Health*. 2004 Jul;40(7):356-9.
- [21] Andrews WW, Goldenberg RL, Faye-Petersen O, Cliver S, Goepfert AR, Hauth JC. The Alabama Preterm Birth study: polymorphonuclear and mononuclear cell placental infiltrations, other markers of inflammation, and outcomes in 23- to 32-week preterm newborn infants. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2006 Sep;195(3):803-8.
- [22] Bancalari E, Claure N. Definitions and diagnostic criteria for bronchopulmonary dysplasia. *Seminars in perinatology*. 2006 Aug;30(4):164-70.
- [23] Lum S, Hulskamp G, Merkus P, Baraldi E, Hofhuis W, Stocks J. Lung function tests in neonates and infants with chronic lung disease: forced expiratory maneuvers. *Pediatric pulmonology*. 2006 Mar;41(3):199-214.
- [24] Tepper RS, Morgan WJ, Cota K, Taussig LM. Expiratory flow limitation in infants with bronchopulmonary dysplasia. *The Journal of pediatrics*. 1986 Dec;109(6):1040-6.
- [25] Robin B, Kim YJ, Huth J, Klocksieben J, Torres M, Tepper RS, et al. Pulmonary function in bronchopulmonary dysplasia. *Pediatric pulmonology*. 2004 Mar;37(3):236-42.
- [26] Jones MH, Corso AL, Edelweiss MI, Friedrich L, Pitrez PM, Stein RT. Chorioamnionitis and Subsequent Lung Function in Preterm Infants. *European Respiratory Society*. Stockholm 2007.
-

- [27] Ballard JL, Khoury JC, Wedig K, Wang L, Eilers-Walsman BL, Lipp R. New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants. *The Journal of pediatrics*. 1991 Sep;119(3):417-23.
- [28] Salafia CM, Weigl C, Silberman L. The prevalence and distribution of acute placental inflammation in uncomplicated term pregnancies. *Obstetrics and gynecology*. 1989 Mar;73(3 Pt 1):383-9.
- [29] Feher A, Castile R, Kisling J, Angelicchio C, Filbrun D, Flucke R, et al. Flow limitation in normal infants: a new method for forced expiratory maneuvers from raised lung volumes. *J Appl Physiol*. 1996 Jun;80(6):2019-25.
- [30] Fenton TR. A new growth chart for preterm babies: Babson and Benda's chart updated with recent data and a new format. *BMC Pediatr*. 2003 Dec 16;3:13.
- [31] Jones M, Castile R, Davis S, Kisling J, Filbrun D, Flucke R, et al. Forced expiratory flows and volumes in infants - normative data and lung growth. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2000;161:353-9.
- [32] Friedrich L, Stein RT, Pitrez PM, Corso AL, Jones MH. Reduced lung function in healthy preterm infants in the first months of life. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2006 Feb 15;173(4):442-7.
- [33] ACOG committee opinion No. 404 April 2008. Late-preterm infants. *Obstetrics and gynecology*. 2008 Apr;111(4):1029-32.
- [34] Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet*. 2008 Jan 5;371(9606):75-84.
- [35] Holzman C, Lin X, Senagore P, Chung H. Histologic chorioamnionitis and preterm delivery. *American journal of epidemiology*. 2007 Oct 1;166(7):786-94.
- [36] Hannaford K, Todd DA, Jeffery H, John E, Blyth K, Gilbert GL. Role of ureaplasma urealyticum in lung disease of prematurity. *Archives of disease in childhood*. 1999 Nov;81(3):F162-7.
- [37] Shimoya K, Taniguchi T, Matsuzaki N, Moriyama A, Murata Y, Kitajima H, et al. Chorioamnionitis decreased incidence of respiratory distress syndrome by elevating fetal interleukin-6 serum concentration. *Human reproduction (Oxford, England)*. 2000 Oct;15(10):2234-40.
- [38] Lau J, Magee F, Qiu Z, Hoube J, Von Dadelszen P, Lee SK. Chorioamnionitis with a fetal inflammatory response is associated with higher neonatal mortality, morbidity, and resource use than chorioamnionitis displaying a maternal inflammatory response only. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2005 Sep;193(3 Pt 1):708-13.
- [39] Ramsey PS, Lieman JM, Brumfield CG, Carlo W. Chorioamnionitis increases neonatal morbidity in pregnancies complicated by preterm premature rupture of membranes. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2005 Apr;192(4):1162-6.
-

-
- [40] Van Marter LJ, Dammann O, Allred EN, Leviton A, Pagano M, Moore M, et al. Chorioamnionitis, mechanical ventilation, and postnatal sepsis as modulators of chronic lung disease in preterm infants. *The Journal of pediatrics*. 2002 Feb;140(2):171-6.
- [41] Lahra MM, Jeffery HE. A fetal response to chorioamnionitis is associated with early survival after preterm birth. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2004 Jan;190(1):147-51.
- [42] Stocks J, Henschen M, Hoo AF, Costeloe K, Dezateux C. Influence of ethnicity and gender on airway function in preterm infants. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1997 Dec;156(6):1855-62.
- [43] Tiddens HA, Hofhuis W, Casotti V, Hop WC, Hulsmann AR, de Jongste JC. Airway dimensions in bronchopulmonary dysplasia: implications for airflow obstruction. *Pediatric pulmonology*. 2008 Dec;43(12):1206-13.
- [44] Coalson JJ. Pathology of new bronchopulmonary dysplasia. *Semin Neonatol*. 2003 Feb;8(1):73-81.
- [45] Friedrich L, Pitrez PM, Stein RT, Goldani M, Tepper R, Jones MH. Growth rate of lung function in healthy preterm infants. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2007 Dec 15;176(12):1269-73.
-

*ONLINE DATA SUPPLEMENT – Chorioamnionitis
and Lung function in Preterm Infants*

Chorioamnionitis and Subsequent Lung Function in Preterm Infants

Andréa L. Corso, MD PhD¹; Robert S. Tepper, MD PhD²; Maria Isabel Edelweiss, MD PhD
Luciana Friedrich, MD PhD³; Paulo M. C. Pitrez, MD PhD¹; Renato T. Stein, MD PhD¹ ;
Marcus H. Jones, MD PhD¹.

¹ Biomedical Research Institute, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brazil IPB PUCRS

² Department of Pediatrics, James Whitcomb Riley Hospital for Children, Herman B. Wells Center for Pediatric Research, Indiana University, Indianapolis, Indiana, United States

³ Pathology Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

Source of Funding: CAPES/Brazil, CNPq/Brazil, FAPERGS

Corresponding author: Marcus Herbert Jones
Hospital São Lucas
Instituto de Pesquisas Biomédicas - PUCRS
Av. Ipiranga 6690,
Porto Alegre, Brazil
CEP 90610-000
Phone / Fax: +55 (51) 3384-5104
E-mail: mhjones@pucrs.br

ONLINE DATA SUPPLEMENT

TABLE E1: COMPARISON BETWEEN THE STUDY GROUP AND THE SUBGROUP WITH HISTOLOGICAL ASSESSMENT OF MEMBRANES AND LUNG FUNCTION TEST.

	All Preterm Infants, n=171	Preterm infants with lung function and histological assessment of membranes, n=96
Male	88(51.5%)	45 (46.9%)
Caucasian	94(55%)	56 (58.3%)
Smoking during pregnancy	35(20.5%)	18 (18.8%)
Intrauterine growth retardation	21(12.3%)	8 (8.3%)
Hyaline Membrane Disease	26(15.2%)	15 (15.6%)
Congenital sepsis	51(29.8%)	26 (27.1%)
Patent Ductus Arteriosus	18(10.5%)	10 (10.4%)
Vaginal delivery	76(44.4%)	44 (45.8%)
Bronchopulmonary dysplasia	14(8.2%)	10 (10.4%)
Antenatal corticosteroid use	68(39.8%)	37 (38.5%)
Gestational age (weeks)	33.4(3.1)	33.4(3.1)
Age of the Mother (years)	25(7.5)	25(7.3)
Birth weight (g)	2104(695)	2166(700)
Supplemental Oxygen	56(33%)	32 (33%)
Mechanical ventilation	29(17%)	15 (15.6%)

TABLE E2: ANALYSIS OF THE INTERACTION BETWEEN GENDER AND HCA AFTER ADJUSTING FOR GESTATIONAL AGE AND BODY LENGTH

ANOVA^{a,b}

			Experimental Method					
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	B
FVC	Covariates	(Combined)	556436.9	2	278218.442	227.323	.000	
		Gest Age	91.787	1	91.787	.075	.785	-.317
		length	549563.3	1	549563.339	449.030	.000	12.985
	Main Effects	(Combined)	2810.480	2	1405.240	1.148	.322	
		sex	21.973	1	21.973	.018	.894	
		HCA	2765.148	1	2765.148	2.259	.136	
	2-Way Interactions	sex * HCA	295.557	1	295.557	.241	.624	
	Model		559542.9	5	111908.584	91.437	.000	
	Residual		110150.2	90	1223.891			
	Total		669693.1	95	7049.401			
FEF50	Covariates	(Combined)	1228910	2	614455.244	52.219	.000	
		Gest Age	257303.4	1	257303.411	21.867	.000	16.805
		length	837699.4	1	837699.402	71.192	.000	16.032
	Main Effects	(Combined)	304448.2	2	152224.090	12.937	.000	
		sex	292066.6	1	292066.573	24.821	.000	
		HCA	8139.723	1	8139.723	.692	.408	
	2-Way Interactions	sex * HCA	105640.5	1	105640.491	8.978	.004	
	Model		1638999	5	327799.832	27.858	.000	
	Residual		1059015	90	11766.835			
	Total		2698014	95	28400.151			
FEF75	Covariates	(Combined)	284218.0	2	142109.019	22.872	.000	
		Gest Age	91516.470	1	91516.470	14.729	.000	10.022
		length	158495.0	1	158495.040	25.509	.000	6.974
	Main Effects	(Combined)	120737.4	2	60368.712	9.716	.000	
		sex	115136.3	1	115136.349	18.530	.000	
		HCA	3796.856	1	3796.856	.611	.436	
	2-Way Interactions	sex * HCA	47381.071	1	47381.071	7.626	.007	
	Model		452336.5	5	90467.307	14.560	.000	
	Residual		559202.8	90	6213.365			
	Total		1011539	95	10647.783			
FEF25-75	Covariates	(Combined)	963022.1	2	481511.026	43.098	.000	
		Gest Age	227058.3	1	227058.250	20.323	.000	15.786
		length	627636.7	1	627636.667	56.178	.000	13.877
	Main Effects	(Combined)	259137.6	2	129568.797	11.597	.000	
		sex	242281.1	1	242281.135	21.686	.000	
		HCA	12240.493	1	12240.493	1.096	.298	
	2-Way Interactions	sex * HCA	97182.523	1	97182.523	8.698	.004	
	Model		1319342	5	263868.434	23.618	.000	
	Residual		1005511	90	11172.343			
	Total		2324853	95	24472.137			
FEV0.5	Covariates	(Combined)	276126.8	2	138063.386	154.564	.000	
		Gest Age	5582.819	1	5582.819	6.250	.014	2.475
		length	256920.5	1	256920.535	287.626	.000	8.879
	Main Effects	(Combined)	10072.653	2	5036.326	5.638	.005	
		sex	8058.550	1	8058.550	9.022	.003	
		HCA	1710.812	1	1710.812	1.915	.170	
	2-Way Interactions	sex * HCA	4165.895	1	4165.895	4.664	.033	
	Model		290365.3	5	58073.064	65.014	.000	
	Residual		80391.988	90	893.244			
	Total		370757.3	95	3902.708			

a. FVC, FEF50, FEF75, FEF25-75, FEV0.5 by sex, HCA with Gest Age, length

b. Covariates entered first

Legends for online figures

REFERENCE LIST (E1) Jones, M., R. Castile, S. Davis, J. Kisling, D. Filbrun, R. Flucke, A. Goldestein, C. Emsley, W. Ambrosius, and R. Tepper. 2000. Forced expiratory flows and volumes in infants - normative data and lung growth. *Am J Respir Crit Care Med* 161:353-359.

Legends for online figures

Figure E1. Forced vital capacity (FVC) (ml) versus body length (cm) for the HCA (grey dots) and No HCA (red dots) in **female** preterm infants. Reference lines are plotted at the 95th percentile, 50th percentile and 5th percentile from published equations. (Reference E1)

Figure E2. Plot of FEF₅₀ (mL/s) versus body length (cm) for the HCA (grey dots) and No HCA (red dots) in **female** preterm infants. Reference lines are plotted at the 95th percentile, 50th percentile and 5th percentile from published equations. (Reference E1)

Figure E3. Plot of FEF₂₅₋₇₅ (mL/s) versus body length (cm) for the HCA (grey dots) and No HCA (red dots) in **female** preterm infants. Reference lines are plotted at the 95th percentile, 50th percentile and 5th percentile from published equations. (Reference E1)

Figure E4. Plot of FEV_{0.5} (mL) versus body length (cm) for the HCA (grey dots) and No HCA (red dots) in **female** preterm infants. Reference lines are plotted at the 95th percentile, 50th percentile and 5th percentile from published equations. (Reference E1)

Figure E5. Forced vital capacity (FVC) (ml) versus body length (cm) for the HCA (grey dots) and No HCA (red dots) in **male** preterm infants. Reference lines are plotted at the 95th percentile, 50th percentile and 5th percentile from published equations. (Reference E1)

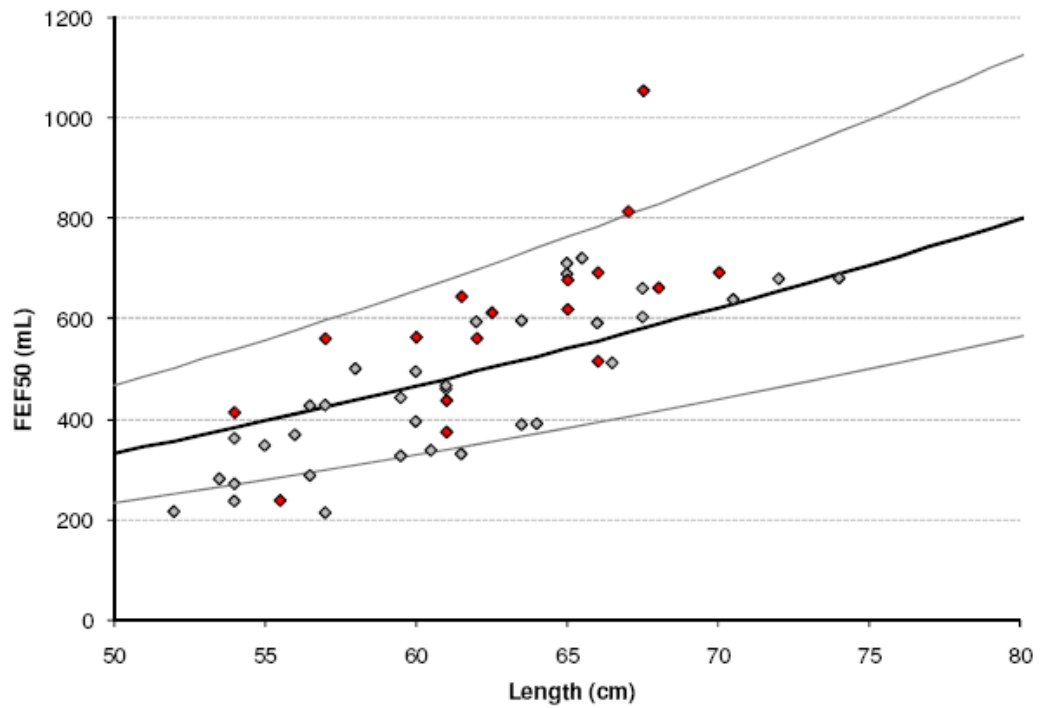
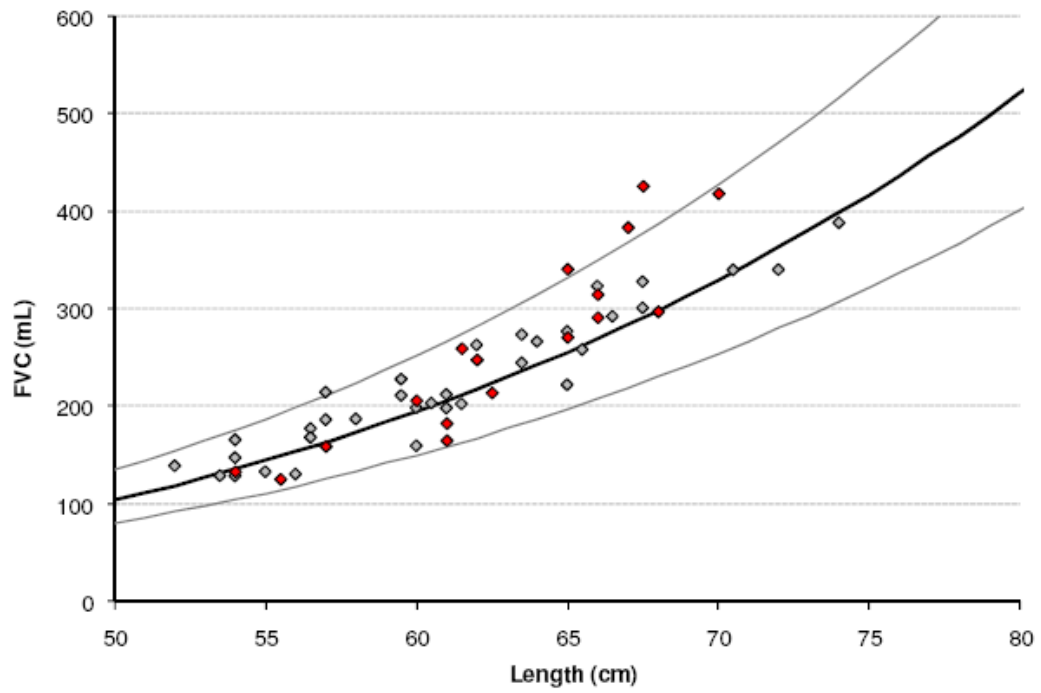
Figure E6. Plot of FEF₅₀ (mL/s) versus body length (cm) for the HCA (grey dots) and No HCA (red dots) in **male** preterm infants. Reference lines are plotted at the 95th percentile, 50th percentile and 5th percentile from published equations. (Reference E1)

Figure E7. Plot of FEF₂₅₋₇₅ (mL/s) versus body length (cm) for the HCA (grey dots) and No HCA (red dots) in **male** preterm infants. Reference lines are plotted at the 95th percentile, 50th percentile and 5th percentile from published equations. (Reference E1)

Figure E8. Plot of FEV_{0.5} (mL) versus body length (cm) for the HCA (grey dots) and No HCA (red dots) **male** preterm infants. Reference lines are plotted at the 95th percentile, 50th percentile and 5th percentile from published equations. (Reference E1)

Figure E9. Plot of Lung function variables, in **female** preterm infants with and without exposure to chorioamnionitis, after adjustment for length and gestational age.

Figure E10. Plot of Lung function variables, in **male** preterm infants with and without exposure to chorioamnionitis, after adjustment for length and gestational age.



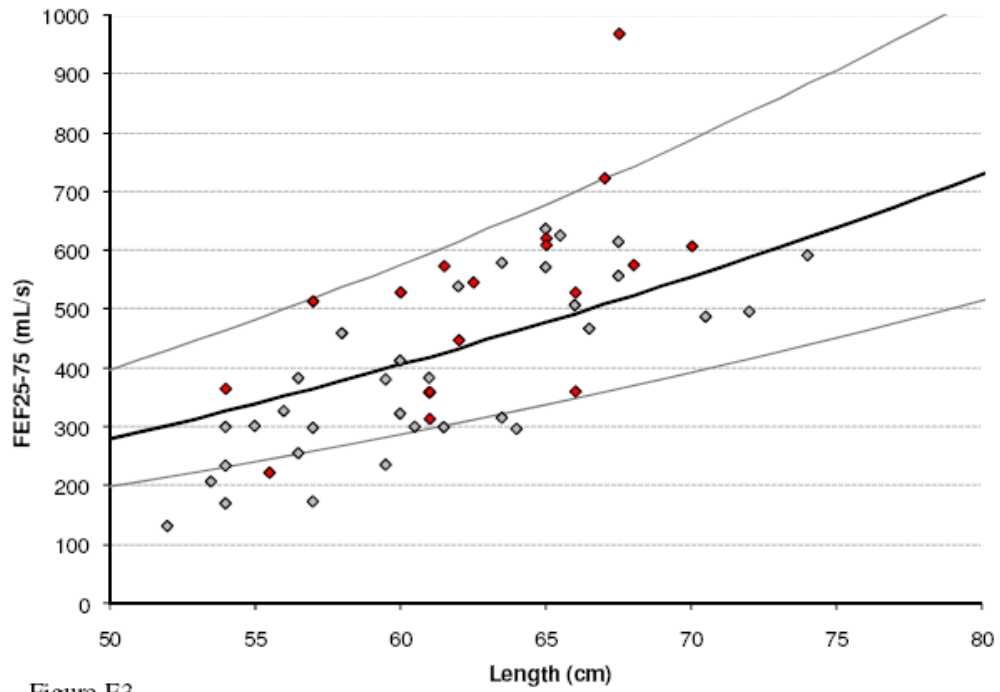


Figure E3

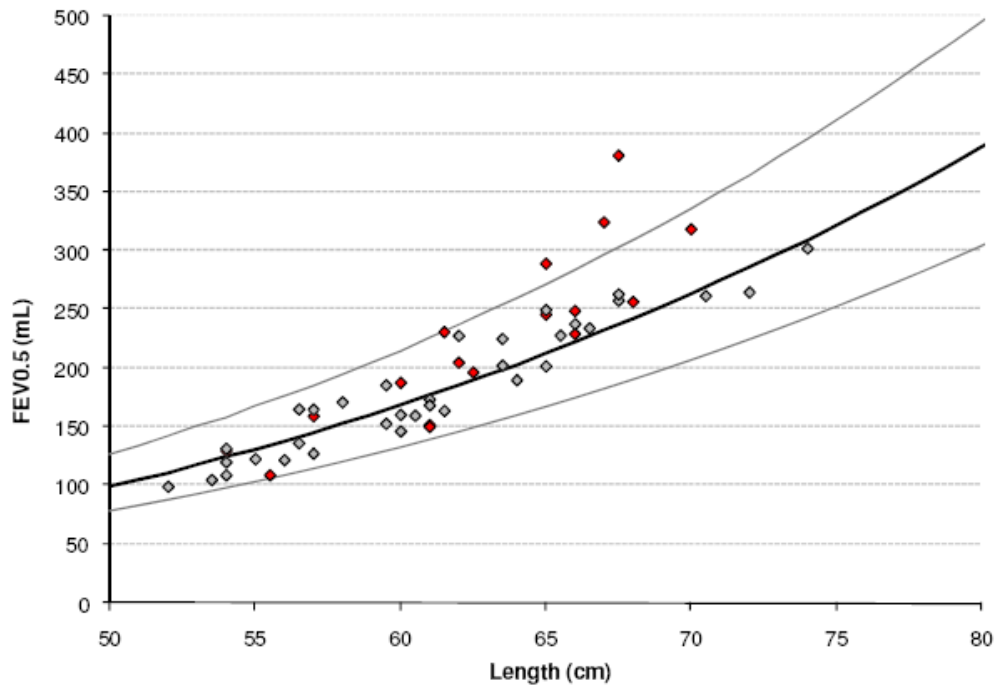


Figure E4

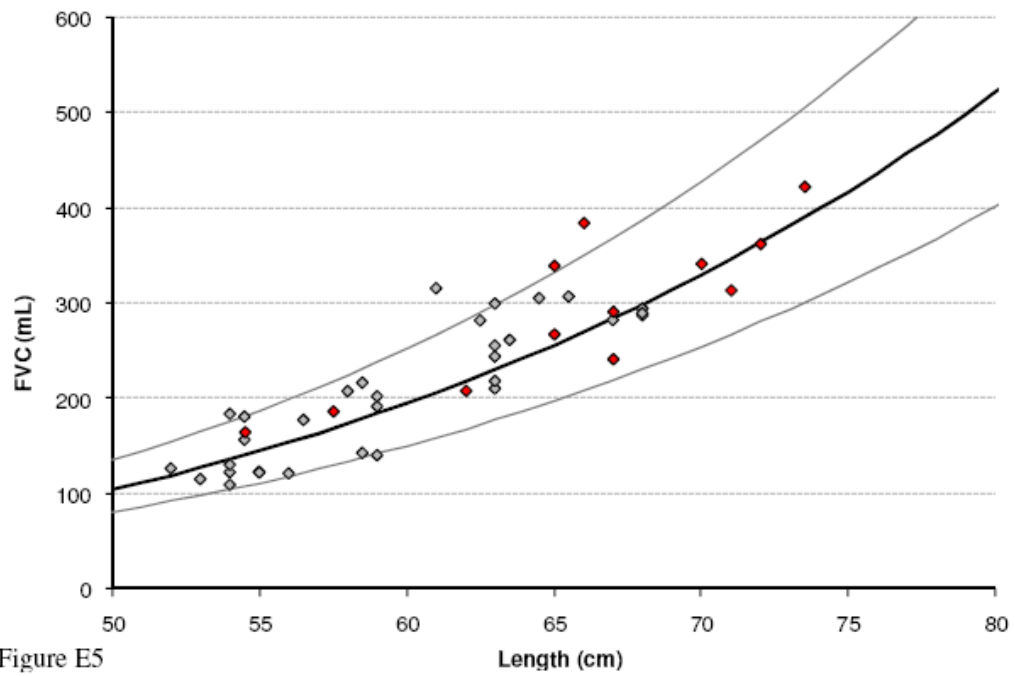


Figure E5

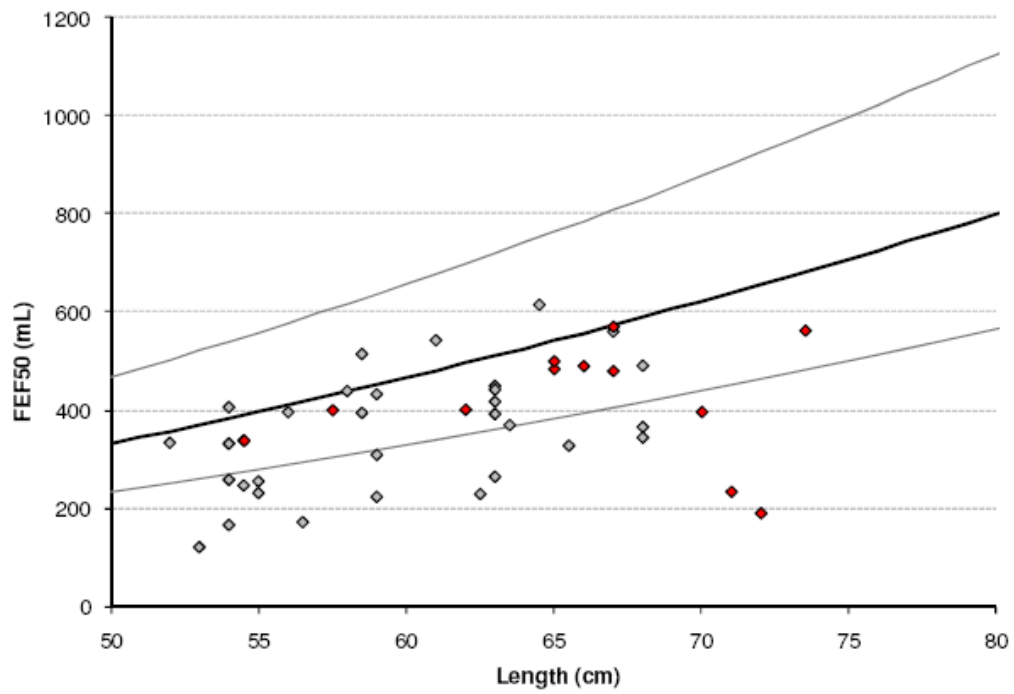


Figure E6

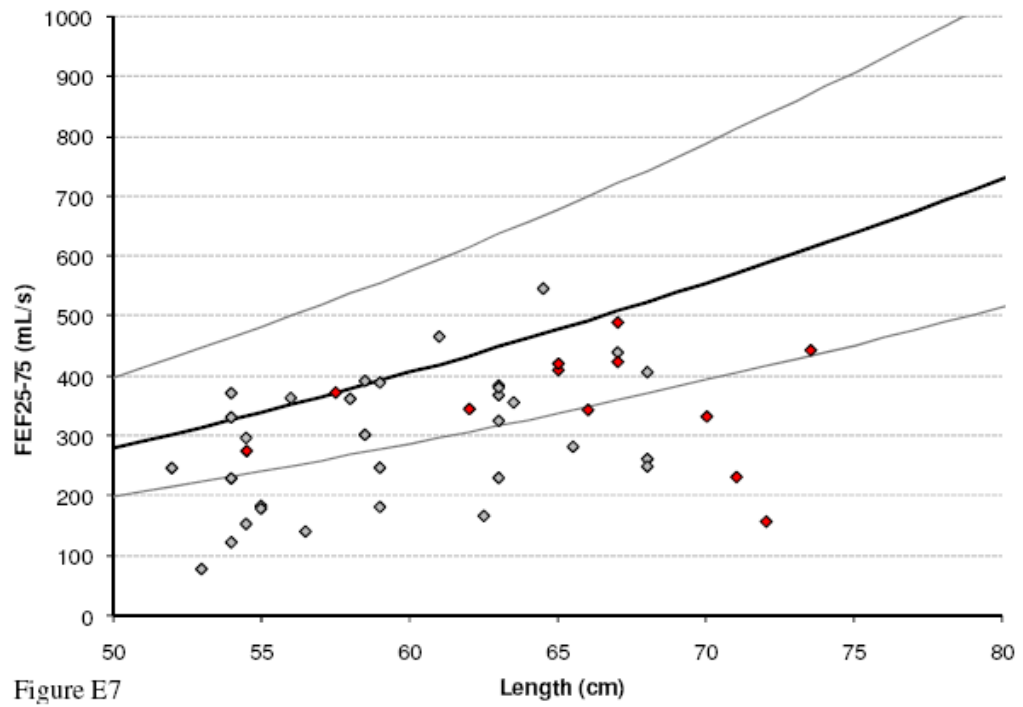


Figure E7

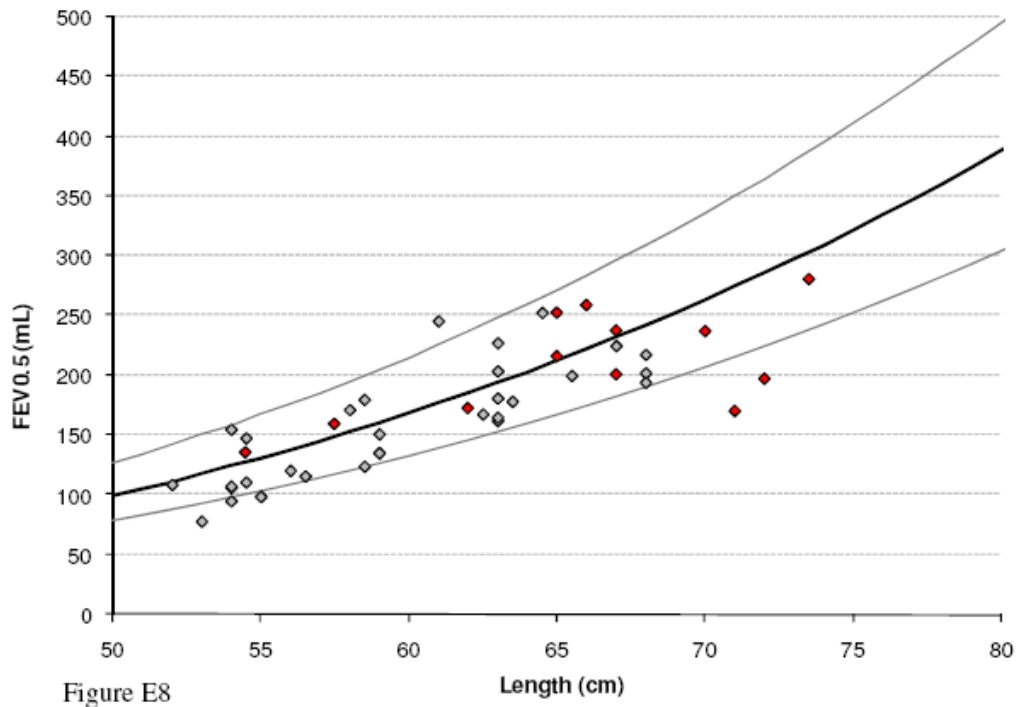


Figure E8

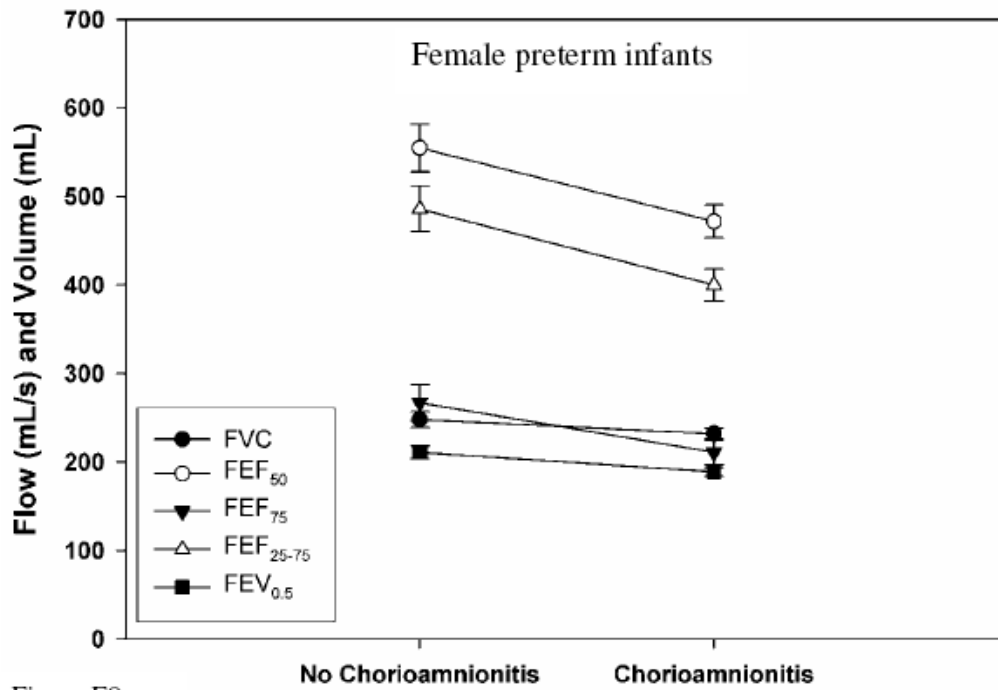


Figure E9

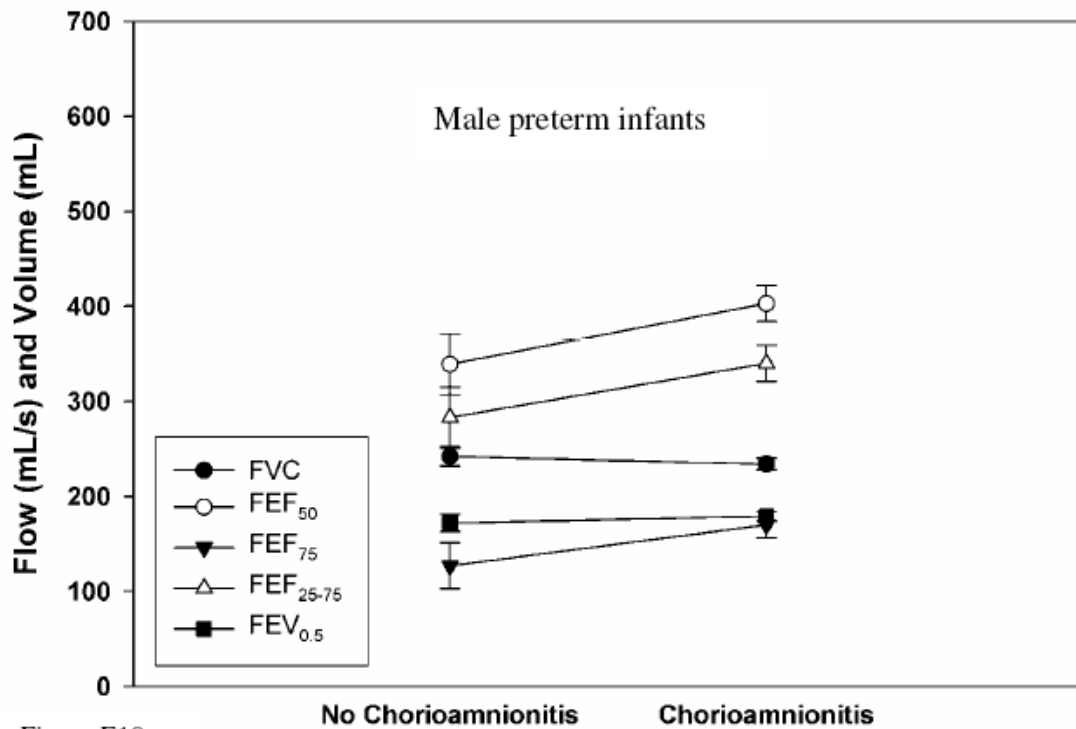


Figure E10

CAPÍTULO IV

CONCLUSÕES

1. RNs pré-termo apresentam redução de fluxos expiratórios com capacidade vital normal
 2. Corioamnionite está associada ao desenvolvimento de displasia broncopulmonar e ventilação mecânica em RNs pré-termo
 3. Corioamnionite está associada a fluxos expiratórios reduzidos em pré-termos do sexo feminino, mas não em pré-termos do sexo masculino.
-

ANEXOS

ANEXO 1 - Protocolo de Registro de Dados

RN:.....Sexo:.....Registro:.....

Mãe:.....Idade:.....Gesta:.....P:...

Pai:.....

Telefones:.....

Endereço:.....

Pré-natal: nr.cons.(); exames alterados:.....

Medicações utilizadas

()Pré-eclâmpsia; ()DMG; ()ITU; ()Fumo; ()Rupreme.....hs.

Uso de corticóide: nr. de doses.....; quando.....

Sinais de corioamnionite:()febre materna ()dor baixo ventre ()LA fétido

IGO:.....Eco:.....DUM.....

DN:.....às.....hs.

Parto:.....apresentação.....BR:.....LA:.....

Atend. sala de parto.....

PN:.....Apgar:.....IGP:.....()AIG ()GIG ()PIG

Coletas:Placenta:.....Sangue cordão:Líquido amniótico:

Diagnósticos na internação.....

Foi à ventilação:.....hrs. de vida, por.....

Uso de surfactante: 1ª dose:.....hs de vida; 2ªdose:.....hs de vida; 3ªdose:.....hs.

Dias em ventilação mecânica:

Dias em CPAP:

Dias em oxigenoterapia:

Complicações: Sepsis:Clínica () () HMC positiva.....

Enterocolite necrosante:.....

Pneumonia:.....

Persistência do canal arterial: Clínica () Ecocardiograma()

Hemorragia intraventricular:.....

Pneumotórax:.....Enfisema intersticial.....

Displasia brocopulmonar:.....

Alta em:.....Peso:.....IGC.....

Óbito em:.....por:.....

Tempo de internação na UTI Neo:.....dias.

ANEXO 2 - Acompanhamento Ambulatorial**Ficha de entrevista**

1. Prontuário:
 2. Data:
 3. Idade:
 4. Raça: () caucasiana () negra () mista
 5. Peso:
 6. Sibilância: Primeiro episódio () Recorrente () Persistente ()
 7. Tosse: () sim () não
 8. Exame físico: FR____ Retrações () Cianose () Sibilos () Crepitações ()
Roncos () gemência () BAN ()
 9. Medicamentos: Beta 2 () Ipratrópium () Antibióticos () Corticóide oral () Cort.
Inalatório ()
 10. Rx de tórax: Infiltrado peri-hilar () Hiperinsuflação () Atelectasia ()
Outros.....
 11. Hist. familiar de asma/atopia: Mãe () Pai () Irmãos ()
 12. Tabagismo domiciliar: Mãe () Pai () Outros ()
 13. Saturação:
 14. Necessidade de oxigênio: Sim () Não (), Se sim, quanto:
 15. Intercorrências/Internações:
-

ANEXO 3 - Macroscopia**Protocolo: Pathology of the Human Placenta – Bernirschke K and Kaufmann P -
fourth edition**

Nome da mãe _____

Registro _____

A) Placenta () monocoriônica () monoamniótica () dicoriônica () diamniótica

Medida _____ x _____ x _____ cm Peso com cordão e

membranas _____ g

B) Cordão

- Com inserção: () central () lateral () intermediária

- Coloração do cordão: () habitual () hemorrágica () acastanhada () amarelada

- Mede _____ cm () sem alterações () edematoso () enrugado () apresentando nó verdadeiro

- Ao corte, apresenta: () 2A+1V () bem visíveis () artéria umbilical única

C) Membranas são: () translúcidas () hemorrágicas () pardacentas () opacas

D) Laceração _____ cm da borda

E) Disco: Forma: () circular () anular () ovalada () fenestrada () lobulada

Face fetal: () transparente () hemorrágica () brilhante () amarelada () fosca
() meconial

Vasos: () bem visíveis () mal visíveis () varicosos () de trajeto velamentoso

Distribuição: () magistral () dispersa

Com: () granulosidades superficiais () hematomas

Face materna: () vinhosa () rosada () esbranquiçada

Com: () lóbulos íntegros () individualizados () parcialmente fusionados

() lóbulos lacerados () fusionados

Com: () coágulos aderidos () microcalcificações () hematoma periférico medindo __ cm

() áreas pálidas numa proporção de ___ () hematoma central medindo _____ cm

Ao corte a superfície é: () vinhosa () esponjosa () clara

ANEXO 4 - Microscopia

Número do caso:
Número de lâminas:

Gradação de inflamação aguda segundo Salafia et alDecídua – Âmnio e Córion

Grau 0 – não observado PMN

Grau 1 - presença de um foco com ao menos 5 PMNs

Grau 2 - mais de um foco de grau 1 ou ao menos 1 foco com 5 – 20 PMNs

Grau 3 - múltiplos e/ou confluentes focos de grau 2

Grau 4- inflamação aguda difusa e densa

Outros diagnósticos (S e N)

Hemorragia ou hematoma

Epitelial vacuolização do âmnio

Macrófagos pigmentados ou com mecônio

Deciduíte aguda

Necrose crônica da decídua

Corioamnionite

Cordão umbilical

Grau 0 – PMN não observado

Grau 1 – PMN no terço interno da veia umbilical

Grau 2 – PMN no terço interno de ao menos dois vasos umbilicais

Grau 3 – PMN na geléia de Wharton perivascular

Grau 4 – Panvasculite e funisite profundas na geléia de Wharton

Outros diagnósticos (S e N)

Trombose

Funisite necrosante
Funisite e vasculite de vasos umbilicais
Hemorragia perivascular

Placa coriônica

Grau 0 – PMN ao observado
Grau 1 – um foco com ao menos 5 PMN na fibrina subcoriônica
Grau 2 – múltiplos focos de grau 1 na fibrina subcoriônica
Grau 3 – alguns PMN no tecido conjuntivo ou placa coriônica
Grau 4 – numerosos PMN na placa coriônica e vasculite coriônica

Inflamação crônica definida como presença de infiltrado linfoblástico nos vilos coriônicos:

Presente
Ausente

Outros diagnósticos (S e N)

Nós sinciciais
Infarto agudo ou antigo
Extenso infarto
Hemáceas nucleadas
Espessamento da membrana basal vilositária
Fibrose estromal vilosa ou esclerose
Edema vilositário
Dismaturidade ou Imaturidade
Corioangiose
Anormalidades nos vasos maternos
Angiomas (Cordão ou placenta)
Endovasculite hemorrágica

Conclusão final:
