

Serum levels of caffeine in umbilical cord and apnea of prematurity

Níveis plasmáticos de cafeína no cordão umbilical e apneia da prematuridade

Cláudia Regina Hentges¹, Renata Rostirola Guedes¹, Rita C. Silveira², Renato S. Procianoy²

Resumo

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

Métodos: Estudo de coorte prospectivo de recém-nascidos pré-termo com peso de nascimento menor que 2.000 g. Os critérios de exclusão foram: mães que receberam opioides; ventilação mecânica durante os primeiros 4 dias de vida; malformações cerebrais e cardíacas maiores; asfíxia perinatal; hemorragia peri-intraventricular grave; exsanguineotransfusão antes do quarto dia de vida; e uso de metilxantina antes da extubação. Os recém-nascidos foram divididos em com e sem cafeína detectável no sangue de cordão umbilical, sendo acompanhados nos primeiros 4 dias para verificar ocorrência de apneia.

Resultados: Oitenta e sete recém-nascidos com e 40 sem cafeína detectável no sangue de cordão umbilical foram estudados. A mediana da concentração de cafeína dos 87 pacientes com cafeína detectável no sangue de cordão umbilical foi 2,3 µg/mL (0,2-9,4 µg/mL). Não houve associação entre ocorrência de apneia e presença de cafeína no sangue de cordão umbilical. Recém-nascidos com cafeína detectável no cordão umbilical tiveram tendência a apresentar apneia mais tardiamente (66,3±4,14 horas) do que aqueles com níveis indetectáveis (54,2±6,26 horas).

Conclusão: A detecção de níveis de cafeína no sangue de cordão umbilical não diminuiu a ocorrência de apneia da prematuridade, mas teve um efeito limítrofe atrasando sua ocorrência, o que sugere que mesmo um nível baixo de cafeína no sangue de cordão umbilical pode retardar a ocorrência de apneia.

J Pediatr (Rio J). 2010;86(2):137-142: Prematuridade, apneia, cafeína, recém-nascido de baixo peso.

Abstract

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

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

Results: Eighty-seven newborns with and 40 without detectable caffeine in umbilical cord blood were studied. Median caffeine concentration of the 87 patients with detectable caffeine in umbilical blood was 2.3 µg/mL (0.2-9.4 µg/mL). There was no association between occurrence of apnea spells and presence of caffeine in umbilical cord blood. Neonates with detectable caffeine in umbilical blood had borderline later apnea (66.3±4.14 hours) than those with undetectable levels (54.2±6.26 hours).

Conclusion: Detected levels of caffeine in umbilical cord blood did not decrease occurrence of apnea of prematurity, but it had a borderline effect delaying its occurrence, suggesting that even a low level of caffeine in umbilical cord blood might delay occurrence of apnea spells.

J Pediatr (Rio J). 2010;86(2):137-142: Prematurity, apnea, caffeine, low-birth-weight infant.

1. MD, Department of Pediatrics, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS. Newborn Section, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS.

2. PhD, MD, Department of Pediatrics, UFRGS, Porto Alegre, RS. Newborn Section, HCPA, Porto Alegre, RS.

Este estudo foi realizado no Departamento de Pediatria, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, e no Serviço de Neonatologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS.

Apoio financeiro: Este estudo foi parcialmente financiado pelo Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS.

Não há conflitos de interesse a declarar em relação à publicação deste artigo.

Como citar este artigo: Hentges CR, Guedes RR, Silveira RC, Procianoy RS. Serum levels of caffeine in umbilical cord and apnea of prematurity. *J Pediatr (Rio J)*. 2010;86(2):137-142.

Artigo submetido em 20.10.09, aceito em 21.01.10.

doi:10.2223/JPED.1990

Introdução

O tratamento da apneia da prematuridade inclui a abordagem farmacológica com cafeína, um poderoso estimulante do sistema nervoso central que reduz as ocorrências de apneia neonatal, promove a consolidação de um padrão regular de respiração e aumenta a ventilação alveolar^{1,2}. O tratamento adequado de apneia no período neonatal é importante, uma vez que há maior incidência de hemorragia peri-intraventricular (HPIV), hidrocefalia, leucomalácia periventricular (LPV), necessidade de suporte ventilatório e alterações no desenvolvimento neurológico no primeiro ano de vida, quando os recém-nascidos pré-termo com apneia são comparados com os sem apneia³.

O papel do consumo materno de cafeína e a ocorrência de apneia em recém-nascidos pré-termo têm suscitado interesse geral. Como a cafeína é uma substância que atravessa a barreira placentária, ela pode ter um estímulo intrauterino do centro respiratório do feto⁴⁻⁶.

A cafeína é provavelmente a droga mais consumida no mundo, usada por pessoas de todas as idades. O consumo diário de cafeína *per capita*, considerando todas as fontes, é de aproximadamente 3-7 mg/kg/dia, cerca de 200 mg/dia na população geral⁴. Seu consumo é tão comum que aproximadamente 95% das grávidas consomem cafeína, seja por dieta ou por medicação⁴. O papel da cafeína na gestação e a ocorrência de apneia da prematuridade permanecem controversos. Este estudo tem por objetivo determinar a influência da presença de cafeína no sangue de cordão umbilical sobre a incidência e período de ocorrência de apneia da prematuridade nos primeiros dias de vida.

Métodos

Estudo de coorte prospectivo, conduzido no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre (RS). A amostra foi composta de recém-nascidos pré-termo com peso de nascimento entre 1.000 e 2.000 g e idade gestacional menor que 37 semanas, nascidos no HCPA entre março de 2006 e maio de 2008.

O estudo excluiu recém-nascidos cujas mães receberam opioides ou drogas que levaram à depressão do centro respiratório, recém-nascidos que permaneceram em ventilação mecânica durante os primeiros 4 dias de vida, com malformações congênitas cerebrais, asfixia perinatal (score de Apgar menor que 7 no 5º minuto de vida), HPIV graus 3 e 4, malformações cardíacas maiores, exsanguineotransusão antes do quarto dia de vida, recém-nascidos que apresentaram uma apneia isolada sem necessidade de medicamentos ou tratamento ventilatório, e os que receberam metilxantina antes da extubação.

As variáveis estudadas foram peso de nascimento, idade gestacional, score de Apgar no 5º minuto de vida, gênero, pré-eclâmpsia materna, tipo de parto, pequeno para idade gestacional (PIG), apneia, pressão positiva contínua das vias aéreas (*continuous positive air pressure*, CPAP) e ventilação mecânica logo após o parto, síndrome do desconforto respiratório (SDR), presença de sepse e/ou meningite, anemia

(hemoglobina < 10 g/dL), persistência do canal arterial (PCA), HPIV, LPV e crise convulsiva.

O método empregado na avaliação da idade gestacional foi preferencialmente a idade gestacional obstétrica obtida por ultrassonografia nas primeiras semanas de vida fetal ou, na impossibilidade desse dado, foi considerada a data da última menstruação confirmada pelo exame clínico do recém-nascido⁷.

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

Para o diagnóstico de sepse precoce, foram considerados os pacientes com quadro clínico e com hemocultura positiva¹⁰⁻¹². No caso de hemocultura positiva por estafilococo coagulase negativa, só foram considerados como sepse os pacientes com hemograma e proteína C reativa alterados e tratados com antibioticoterapia adequada ao germe com resposta à terapêutica. Todos os pacientes com diagnóstico de sepse foram submetidos a punção lombar. Para o diagnóstico de meningite, considerou-se os pacientes com alteração liquórica e cultura de liquor com presença de germe.

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

Previamente à coleta e inclusão, era lido o termo de consentimento aos pais ou responsável. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA (projeto 06-048).

Os recém-nascidos pré-termo que preenchem os critérios de inclusão no estudo tiveram sangue venoso do cordão umbilical coletado imediatamente após o parto. Em seguida, eram acompanhados na unidade de terapia intensiva neonatal para ocorrência de apneia durante os primeiros 4 dias de vida. O diagnóstico de apneia foi realizado através da monitorização do paciente, sendo definida como pausa da respiração por 20 s ou mais, ou pausa de menor duração se acompanhada de cianose, hipotensão ou bradicardia¹³.

Os recém-nascidos foram divididos em dois grupos:

- Grupo 1 – recém-nascidos pré-termo com cafeína detectável no sangue de cordão umbilical.
- Grupo 2 – recém-nascidos pré-termo com cafeína indetectável no sangue de cordão umbilical.

As amostras sanguíneas foram coletadas em sangue de cordão utilizando seringas com heparina. Após, 500 µL de sangue heparinizado foram centrifugados a 3.500 rpm por 5 minutos, e o plasma foi separado e armazenado a -80 °C em tubos Eppendorf, identificado com o número do paciente. O método empregado para determinação da cafeína foi cromatografia líquida de alta pressão (HPLC),

método já empregado em várias pesquisas para dosagem da cafeína¹⁴⁻¹⁹.

Análise estatística

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

As variáveis foram descritas em mediana e amplitude interquartil (p25-p75) ou média \pm desvio padrão. Na análise das características dos grupos, foi utilizado o qui-quadrado, teste exato de Fisher, com exceção da variável peso ao nascer (na qual foi usado o teste *t* de Student) e o escore de Apgar (teste de Mann-Whitney). Na análise da detecção da cafeína no sangue, foi empregado o qui-quadrado. Regressão logística foi realizada nas variáveis com $p \leq 0,10$ com análise univariada. O programa estatístico empregado foi o Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 14.0, nível de significância $p < 0,05$.

Resultados

O sangue de cordão umbilical foi coletado em 151 prematuros; destes, 21 foram posteriormente excluídos (sete por apresentar apneia uma vez sem necessidade de trata-

mento, cinco por permanecerem em ventilação mecânica até o quarto dia de vida, três por HPIV grau 3-4, um por exsanguineotransusão, cinco por metilxantina antes da extubação) e três foram perdidos (dois em função de quantidade de amostra insuficiente para a dosagem de cafeína e um devido à solicitação do familiar). A população do estudo foi constituída por 127 recém-nascidos com idade gestacional média de $32,5 \pm 1,8$ semanas e média do peso de nascimento de 1.594 ± 276 g.

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

As características dos grupos encontram-se descritas na Tabela 1. Pacientes do grupo 2 tiveram idade gestacional significativamente menor e necessitaram mais suporte ventilatório (CPAP e ventilação mecânica logo após o parto) que aqueles do grupo 1.

Quando apenas recém-nascidos com peso de nascimento ≤ 1.500 g e idade gestacional ≤ 34 semanas foram estudados, não houve diferença em peso de nascimento e idade gestacional, e os pacientes com cafeína indetectável no sangue de cordão umbilical necessitaram de mais suporte respiratório logo após o parto (Tabela 2).

O modelo de regressão logística empregado tomou a presença de cafeína no sangue de cordão umbilical como fator dependente, e idade gestacional, ocorrência de apneia, uso de CPAP e ventilação mecânica como fatores independentes. Nenhum desses demonstrou significância estatística (Tabela 3).

Tabela 1 - Características dos grupos estudados

	Grupo 1 (n = 87)	Grupo 2 (n = 40)	p
Peso de nascimento (g)	1.625 \pm 262	1.528 \pm 295	0,06
Idade gestacional (semanas)	32,8 \pm 1,6	31,98 \pm 1,99	0,009
Escore Apgar 5 minutos	9,0	8,78	0,12
Masculino	41 (47,1%)	23 (57,5%)	0,37
Pré-eclâmpsia	25 (28,7%)	9 (22,5%)	0,60
Parto vaginal	27 (31%)	11 (27,5%)	0,84
Pequeno para idade gestacional	45 (51,7%)	24 (60%)	0,49
Apneia	34 (39,1%)	53 (60,9%)	0,08
CPAP	47 (54%)	32 (80%)	0,009
Ventilação mecânica	10 (11,5%)	15 (37,5%)	0,001
Síndrome do desconforto respiratório	9 (10,3%)	6 (15%)	0,55
Sepse	4 (4,6%)	0	0,30
Meningite	0	0	1
Anemia	2 (2,3%)	0	0,84
Persistência do canal arterial	3 (3,4%)	3 (7,5%)	0,58
Hemorragia peri-intraventricular grau 1 e 2	5 (5,7%)	3 (7,5%)	1
Leucomalácia periventricular	3 (3,4%)	6 (15%)	0,14
Convulsões	1 (1,1%)	0	1

CPAP = pressão positiva contínua das vias aéreas (*continuous positive airway pressure*).

Grupo 1 – cafeína detectável no sangue de cordão umbilical.

Grupo 2 – cafeína indetectável no sangue de cordão umbilical.

Valores expressos em média \pm desvio padrão, mediana (p25-p75), número absoluto de recém-nascidos (%), teste *t* de Student, qui-quadrado, teste exato de Fisher, teste de Mann-Whitney.

Tabela 2 - Características dos recém-nascidos com peso de nascimento ≤ 1.500 g e idade gestacional ≤ 34 semanas

	Grupo 1 (n = 25)	Grupo 2 (n = 19)	p
Peso de nascimento (g)	1.273 \pm 123	1.258 \pm 152	0,7
Idade gestacional (semanas)	31,24 \pm 1,5	30,53 \pm 1,42	0,1
Escore Apgar 5 minutos	9 (8-9)	9 (8-9)	0,59
Masculino	7 (28%)	12 (63,2)	0,043
Pré-eclâmpsia	7 (28%)	7 (36,8%)	0,76
Parto vaginal	6 (24%)	3 (15,8%)	0,71
Pequeno para idade gestacional	13 (52%)	10 (52,6%)	1
Apneia	17 (68%)	16 (84,2%)	0,30
CPAP	19 (76%)	19 (100%)	0,029
Ventilação mecânica	6 (24%)	12 (63,2%)	0,021
Síndrome do desconforto respiratório	5 (20%)	4 (21,1%)	1
Sepse	3 (12%)	0	0,25
Meningite	0	0	1
Anemia	0	0	1
Persistência do canal arterial	1 (4%)	3 (15,8%)	0,30
Hemorragia peri-intraventricular grau 1 e 2	5 (20%)	3 (15,8%)	1
Leucomalácia periventricular	3 (12%)	6 (31,6%)	0,14
Convulsões	0	0	1

CPAP = pressão positiva contínua das vias aéreas (*continuous positive airway pressure*).

Grupo 1 – cafeína detectável no sangue de cordão umbilical.

Grupo 2 – cafeína indetectável no sangue de cordão umbilical.

Valores expressos em média \pm desvio padrão, mediana (p25-p75), número absoluto de recém-nascidos (%), teste t de Student, qui-quadrado, teste exato de Fisher, teste de Mann-Whitney.

Recém-nascidos com presença de cafeína detectável no sangue de cordão umbilical tiveram uma tendência a apresentar apneia mais tardiamente: grupo 1 e grupo 2 tiveram apneia em 66,3 \pm 4,14 horas e 54,2 \pm 6,26 horas após o parto, respectivamente ($p = 0,067$).

Discussão

O presente estudo mostrou que os recém-nascidos com níveis detectáveis e indetectáveis de cafeína no sangue de cordão umbilical apresentaram ocorrência similar de apneia, e entre os que apresentaram apneia, os que tinham níveis de cafeína detectável no sangue de cordão apresentaram apneia mais tardiamente. Não houve diferença significativa entre os grupos com e sem cafeína detectável no sangue de cordão

umbilical quanto ao peso de nascimento, escore de Apgar, sexo, pré-eclâmpsia, tipo de parto, PIG, presença de sepse, anemia, PCA, HPIV, LPV e crise convulsiva. No grupo sem cafeína detectável no sangue de cordão umbilical, a idade gestacional foi significativamente menor, e eles necessitaram maior suporte ventilatório, sugerindo o papel da imaturidade nesse grupo de pacientes. A regressão logística demonstrou que nenhuma dessas variáveis esteve associada com a presença de cafeína no sangue de cordão umbilical.

Vários estudos foram realizados com o objetivo de quantificar o uso materno de cafeína na gestação. Concentrações de cafeína e paraxantina na saliva foram medidas em gestantes do Reino Unido (os níveis de cafeína no plasma e na saliva são fortemente correlacionados), e a média de concentração da cafeína foi de 0,45 $\mu\text{g/mL}$ ⁵. Outro estudo, realizado nos

Tabela 3 - Associação com presença de cafeína no sangue de cordão umbilical

Variável	OR	IC95%	p
Idade gestacional	1,039	0,889-1,213	0,631
Apneia	1,109	0,632-1,945	0,719
CPAP	0,830	0,492-1,401	0,486
Ventilação mecânica	0,588	0,282-1,227	0,157

CPAP = pressão positiva contínua das vias aéreas (*continuous positive airway pressure*);

IC95% = intervalo de confiança de 95%; OR = razão de chances (*odds ratio*).

EUA, demonstrou que, entre gestantes no terceiro trimestre de gestação e com relato de baixo consumo de cafeína, a média do nível sérico dessa substância no sangue de cordão umbilical foi de 0,48 µg/mL (variação entre 0-10,49 µg/mL). Mulheres que referiram consumo \geq 300 mg/dia de cafeína no terceiro trimestre tiveram recém-nascidos com média de nível sérico de cafeína no sangue de cordão umbilical de 2,1 µg/mL⁶. Nosso estudo obteve resultado semelhante, indicando um alto consumo de cafeína na população estudada.

McCulloch et al. dosaram cafeína no sangue de cordão umbilical em 79 prematuros²⁰. Onze bebês (14%) tiveram níveis detectáveis de cafeína, enquanto 68 tiveram níveis indetectáveis de cafeína. O nível sérico de cafeína variou entre 1,1 a 3,7 µg/mL. Não houve diferença na ocorrência de apneia entre os dois grupos, porém o diagnóstico de apneia era obtido através de pneumografia, que somente era realizada após estabilidade clínica e em pacientes sem necessidade de suporte ventilatório ou oxigenoterapia, excluindo assim os pacientes graves. Em nosso estudo, a taxa de detecção da cafeína, assim como seus níveis séricos, foi mais elevada do que os desse estudo, provavelmente porque nossa população teve uma maior ingestão de cafeína.

A cafeína tem sido utilizada no tratamento da apneia da prematuridade, e seu nível terapêutico relatado é de 5 a 20 µg/mL². Os níveis detectáveis no sangue de cordão umbilical em nosso estudo foram baixos; sendo assim, sugerimos que não houve diminuição da ocorrência da apneia porque nossos níveis detectáveis estiveram abaixo dos níveis terapêuticos. Uma limitação deste estudo é a falta de comparação do número de episódios de apneia entre os dois grupos. A primeira escolha no tratamento da apneia da prematuridade em nossa unidade é a metilxantina, e seu uso poderia criar um viés nos nossos resultados.

Em um estudo retrospectivo, no qual foram aplicados questionários para 298 mães de bebês com apneia antes da realização de uma polissonografia que seria realizada como parte da avaliação do paciente, determinou-se que o uso materno de cafeína e cigarro durante a gestação esteve relacionado com apneia central. No caso do consumo de cafeína durante a gestação, mesmo após ajuste para idade gestacional, idade na avaliação e peso de nascimento, um aumento de 1 mg/dia esteve associado a aumento de 1 apneia/hora. Foi sugerido que recém-nascidos expostos cronicamente à cafeína intraútero poderiam ser mais sensíveis aos episódios de hipóxia²¹. No nosso estudo, as mães não foram questionadas sobre ingestão de cafeína durante a gestação; a concentração de cafeína foi medida no sangue de cordão umbilical, o que não serve como um indicador de uso crônico de cafeína.

Estudos experimentais demonstraram que ratos recém-nascidos cujas ratas receberam cafeína durante a gestação tiveram seu padrão respiratório alterado²². Sob condições de normóxia, os animais tratados com cafeína apresentaram maior frequência respiratória do que o grupo controle, e sob condições de hipóxia, a depressão respiratória resultante foi enfatizada pela exposição de cafeína intraútero^{22,23}. Esse dado coincide com a taquipneia encontrada em recém-nascidos de

gestantes que tiveram um importante consumo de cafeína na gestação²⁴.

Pré-termos com peso de nascimento entre 500 e 1.250 g tratados com cafeína durante os primeiros 10 dias tiveram uma redução nas taxas de displasia broncopulmonar e apresentaram um melhor desenvolvimento neuropsicomotor com 18 a 21 meses que o grupo controle^{25,26}. Excluímos do estudo recém-nascidos com peso de nascimento < 1.000 g, e a associação entre cafeína no sangue de cordão umbilical e a ocorrência de displasia broncopulmonar e/ou desenvolvimento neuropsicomotor também não foi investigada; no entanto, esses estudos devem ser incentivados.

Neste estudo, a detecção de níveis de cafeína no sangue de cordão umbilical não diminuiu a ocorrência de apneia da prematuridade, mas teve um efeito limítrofe atrasando sua ocorrência, o que sugere que mesmo um nível baixo de cafeína no sangue de cordão umbilical pode retardar a ocorrência de apneia.

Agradecimentos

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

Referências

- Henderson-Smart DJ, Steer P. [Methylxanthine treatment for apnea in preterm infants](#). Cochrane Database Syst Rev. 2001: CD000140.
- Aranda JV, Gorman W, Bergsteinson H, Gunn T. [Efficacy of caffeine in treatment of apnea in the low-birth-weight infant](#). J Pediatr. 1977;90:467-72.
- Janvier A, Khairy M, Kokkotis A, Cormier C, Messmer D, Barrington KJ. [Apnea is associated with neurodevelopmental impairment in very low birth weight infants](#). J Perinatol. 2004;24:763-8.
- de Souza RA, Schieri R. Caffeine intake and prematurity. Rev Nutr. 2005;18:643-50.
- Boylan SM, Cade JE, Kirk SF, Greenwood DC, White KL, Shires S, et al. [Assessing caffeine exposure in pregnant women](#). Br J Nutr. 2008;100:875-82.
- Grosso LM, Triche E, Benowitz NL, Bracken MB. [Prenatal caffeine assessment: fetal and maternal biomarkers or self-reported intake?](#) Ann Epidemiol. 2008;18:172-8.
- Chamberlain G. [ABC of antenatal care. Checking for fetal wellbeing - I](#). BMJ. 1991;302:837-9.
- Alexander GR, Himes JH, Kaufman RB, Mor J, Kogan M. [A United States national reference for fetal growth](#). Obstet Gynecol. 1996;87:163-8.
- Lee PA, Chernausk SD, Hokken-Koelega AC, Czernichow P; International Small for Gestational Age Advisory Board. [International Small for Gestational Age Advisory Board consensus development conference statement: management of short children born small for gestational age, April 24-October 1, 2001](#). Pediatrics. 2003;111:1253-61.
- Gerdes JS. [Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate](#). Pediatr Clin North Am. 2004;51:939-59, VIII-IX.
- Silveira RC, Procianny RS. [Evaluation of interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and interleukin-1beta for early diagnosis of neonatal sepsis](#). Acta Paediatr. 1999;88:647-50.

12. Vergnano S, Sharland M, Kazembe P, Mwansambo C, Heath P. Neonatal sepsis: an international perspective. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2005;90:F220-4.
13. Poblano A, Marquez A, Hernandez G. Apnea in infants. *Indian J Pediatr.* 2006;73:1085-8.
14. Schreiber-Deturmeny E, Bruguerolle B. Simultaneous high-performance liquid chromatographic determination of caffeine and theophylline for routine drug monitoring in human plasma. *J Chromatogr B Biomed Appl.* 1996;677:305-12.
15. Biaggioni I, Paul S, Robertson D. A simple liquid chromatographic method applied to determine caffeine in plasma and tissues. *Clin Chem.* 1988;34:2345-8.
16. Pickard CE, Stewart AD, Hartley R, Lucock MD. A rapid HPLC method for monitoring plasma levels of caffeine and theophylline using solid phase extraction columns. *Ann Clin Biochem.* 1986;23:440-6.
17. Tanaka E. Simultaneous determination of caffeine and its primary demethylated metabolites in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr.* 1992;575:311-4.
18. Foenander T, Birkett DJ, Miners JO, Wing LM. The simultaneous determination of theophylline, theobromine and caffeine in plasma by high performance liquid chromatography. *Clin Biochem.* 1980;13:132-4.
19. Scott NR, Chakraborty J, Marks V. Determination of caffeine, theophylline and theobromine in serum and saliva using high performance liquid chromatography. *Ann Clin Biochem.* 1984;21:120-4.
20. McCulloch KM, Braun RJ, Simms PE, Evans MA, Kelly DH. Transplacentally acquired caffeine and the occurrence of apnea, bradycardia, and periodic breathing in preterm infants: preliminary communication. *Pediatr Pulmonol.* 1989;7:66-70.
21. Toubas PL, Duke JC, McCaffree MA, Mattice CD, Bendell D, Orr WC. Effects of maternal smoking and caffeine habits on infantile apnea: a retrospective study. *Pediatrics.* 1986;78:159-63.
22. Bodineau L, Cayetanot F, Sådani-Makki F, Bach V, Gros F, Lebleu A, et al. Consequences of in utero exposure on respiratory output in normoxic and hypoxic conditions and related changes of Fos expression: a study on brainstem-spinal cord preparations isolated from newborn rats. *Pediatr Res.* 2003;53:266-73.
23. Herlenius E, Adén U, Tang LQ, Lagercrantz H. Perinatal respiratory control and its modulation by adenosine and caffeine in the rat. *Pediatr Res.* 2002;51:4-12.
24. McGowan JD, Altman RE, Kanto WP Jr. Neonatal withdrawal symptoms after chronic maternal ingestion of caffeine. *South Med J.* 1988;81:1092-4.
25. Schmidt B, Roberts RS, Davis P, Doyle LW, Barrington KJ, Ohlsson A, et al. Caffeine therapy for apnea of prematurity. *N Engl J Med.* 2006;354:2112-21.
26. Schmidt B, Roberts RS, Davis P, Doyle LW, Barrington KJ, Ohlsson A, et al. Long-term effects of caffeine therapy for apnea of prematurity. *N Engl J Med.* 2007;357:1893-902.

Correspondência:
Renato S. Procianoy
Rua Tobias da Silva, 99/302
CEP 90570-020 - Porto Alegre, RS
Tel.: (51) 3331.5726
Fax: (51) 3331.2738
E-mail: renatosp@terra.com.br