

Antenatal maternal corticosteroid administration and markers of oxidative stress and inflammation in umbilical cord blood from very low birth weight preterm newborn infants

Uso materno antenatal de corticosteroide e marcadores de estresse oxidativo e de inflamação no sangue de cordão umbilical de recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso

Jamil P. S. Caldas¹, Maria M. S. Vilela², Carolina A. Braghini³,
Tais N. Mazzola⁴, Sérgio T. M. Marba⁵

Resumo

Objetivo: Avaliar a associação entre o uso materno antenatal de corticosteroide e os níveis sanguíneos de intermediários reativos de oxigênio (ROI), glutatona reduzida (GR) e interleucina-6 (IL-6) em recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso ao nascer.

Métodos: Estudo de coorte. A dosagem foi feita em sangue de cordão umbilical. A dosagem de ROI por granulócitos foi realizada por citometria de fluxo nos estados basal e estimulado; a GR, por espectrofotometria; e a IL-6, por *enzyme-linked immunosorbent assay*. Foram considerados dois grupos em relação ao uso de corticosteroide (betametasona) antenatal: uso ou não da medicação; e, se presente, se foi de modo completo ou parcial. Variáveis maternas e neonatais foram consideradas para efeito de comparação dos grupos. As variáveis categóricas foram comparadas usando os testes do qui-quadrado ou de Fischer, e as comparações dos valores dos marcadores sanguíneos foram feitas usando-se o teste de Mann-Whitney.

Resultados: Os grupos de corticoterapia foram comparáveis em relação às variáveis maternas e neonatais, exceto a ocorrência de parto vaginal, o qual foi associado significativamente à ausência de uso de corticosteroide antenatal. Os valores de ROI, GR e IL-6 não se mostraram diferentes quando se avaliou a presença ou ausência da administração de esteroide; porém, quando o ciclo se fez de modo completo, encontraram-se menores medianas de ROI e IL-6.

Conclusão: A administração de ciclo completo de betametasona à mãe exerceu um efeito supressor sobre a produção basal de ROI e de IL-6 em recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso.

J Pediatr (Rio J). 2012;88(1):61-6: Recém-nascido, estresse oxidativo, espécies reativas de oxigênio, interleucina-6, glutatona.

Abstract

Objective: To investigate the association between antenatal maternal corticosteroid administration and blood levels of reactive oxygen intermediates (ROI), reduced glutathione (GR) and interleukin-6 (IL-6) in preterm, very low birth weight infants.

Methods: This was a cohort study in which cord blood samples were used for the following tests: baseline and stimulated granulocyte ROI were measured by flow cytometry; GR was assayed by spectrophotometry; and IL-6 by enzyme-linked immunosorbent assay. Two different comparative analyses of antenatal corticosteroid (betamethasone) were conducted: the first compared administration against no administration and the second compared mothers who received the complete cycle with those given only a partial antenatal corticosteroid cycle. Maternal and neonatal variables were analyzed in order to compare groups. Categorical variables were compared using the chi-square or Fischer tests, and blood marker test results were compared using the Mann-Whitney test.

Results: The different corticoid therapy groups were similar in terms of all of the maternal and neonatal variables with the exception of vaginal delivery, which was significantly associated with not receiving antenatal corticosteroid. The results for ROI, GR and IL-6 did not differ when the comparison was based on simple presence or absence of administration of the steroid. However, when the complete cycle was compared against incomplete administration, median ROI and IL-6 were lower among those given the complete cycle.

Conclusion: Administration of the complete cycle of betamethasone to the mother had a suppressive effect on baseline ROI and IL-6 production in very low birth weight preterm newborn infants.

J Pediatr (Rio J). 2012;88(1):61-6: Newborn, oxidative stress, reactive oxygen species, interleukin-6, glutathione.

1. Neonatologista. Mestre, Pediatria, Faculdade de Ciências Médicas (FCM), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP. Doutorando, Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, FCM, UNICAMP, Campinas, SP. Médico assistente, Hospital da Mulher Professor Doutor José Aristodemo Pinotti, Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM), UNICAMP, Campinas, SP.
2. Professora titular, Departamento de Pediatria, FCM, UNICAMP, Campinas, SP.
3. Bióloga. Mestranda, Genética e Biologia Molecular, Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas, SP.
4. Bióloga. Mestre, Saúde da Criança e do Adolescente, UNICAMP, Campinas, SP.
5. Professor livre-docente, Departamento de Pediatria, FCM, UNICAMP, Campinas, SP.

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

Apoio financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), projeto nº 08/57405-4.

Como citar este artigo: Caldas JP, Vilela MM, Braghini CA, Mazzola TN, Marba ST. Antenatal maternal corticosteroid administration and markers of oxidative stress and inflammation in umbilical cord blood from very low birth weight preterm newborn infants. *J Pediatr (Rio J)*. 2012;88(1):61-6.

Artigo submetido em 18.08.11, aceito em 11.10.11.

<http://dx.doi.org/10.2223/JPED.2158>

Introdução

O uso antenatal de corticosteroide é uma terapia efetiva e recomendada para gestantes com risco de trabalho de parto prematuro, antes de 34 semanas de gestação, para amadurecimento pulmonar fetal¹. Revisões sistemáticas demonstraram que o seu uso está associado com uma redução global da morte neonatal, menor risco de desenvolvimento de síndrome do desconforto respiratório, diminuição do risco de enterocolite necrosante e de hemorragia peri e intraventricular. Além disso, o uso da medicação não aumenta o risco materno de corioamnionite ou de sepse puerperal^{2,3}.

Os mecanismos pelos quais os esteroides exercem essa função protetora no feto/recém-nascido (RN) são múltiplos, tanto anatômicos como relacionados à influência sobre sistemas enzimáticos. Um dos efeitos do medicamento é sobre a produção de radicais livres.

Os RN, especialmente os pré-termo, são altamente suscetíveis a lesões teciduais e orgânicas por radicais livres, notadamente aqueles derivados do oxigênio, sendo o ânion superóxido o mais importante dos intermediários reativos de oxigênio (ROI) e produzidos em respostas a estímulos hipóxico-isquêmicos ou inflamatórios^{4,5}. Além disso, a gestação em si é um estado fisiológico com aumento da demanda metabólica e aumento das necessidades de oxigênio tecidual e, na eventualidade de anormalidades da gestação, pode ocorrer desbalanço oxidativo, e o excesso de radicais livres pode promover dano ao feto, os quais já possuem um sistema de defesa antioxidante deficitário⁶. Nesse aspecto, é importante ressaltar que o principal componente antioxidante intracelular, a glutatona, só apresenta a sua máxima produção no final da gestação⁷.

A ação de corticosteroides sobre a produção de espécies reativas de oxigênio tem sido demonstrada em vários trabalhos experimentais. Dandona et al.⁸ demonstraram, em indivíduos adultos, que uma injeção única de hidrocortisona foi suficiente para provocar a diminuição significativa da produção de radicais livres derivados do O₂, alcançando um valor mínimo com 2 e 8 horas e retorno ao normal em 24 horas após a administração.

Trabalho realizado em RN pré-termo de ovelhas que receberam betametasona no período antenatal demonstrou que o esteroide promoveu redução da produção de peróxido de hidrogênio, da interleucina-6 (IL-6) e da capacidade de fagocitose. Tais efeitos foram tempo-dependente e, ao final de 7 dias após a aplicação, já não mais ocorriam⁹.

Também tem sido demonstrado, nas últimas duas décadas, que existe uma relação estreita entre os mediadores do estresse oxidativo e os marcadores bioquímicos de inflamação, como as interleucinas, observando-se uma ação recíproca de indução de síntese de radicais livres e mediadores inflamatórios^{5,10}.

No entanto, o efeito de esteroides administrados à mãe na produção de ROI por leucócitos polimorfonucleares fetais não foi ainda estudado em seres humanos. A melhor compreensão dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na ação do corticosteroide antenatal é importante no estabelecimento de alvos em potencial para redução ou

mesmo prevenção das consequências danosas da ação dos radicais livres¹¹.

Desse modo, o objetivo do estudo foi de avaliar a associação entre o uso materno antenatal de corticosteroide e os níveis sanguíneos de ROI, glutatona reduzida (GR) e IL-6 em RN pré-termo de muito baixo peso ao nascer.

Metodologia

Estudo de coorte. Foram selecionados todos os RN vivos pré-termo com peso de nascimento menor que 1.500 g, nascidos em um centro terciário de atenção neonatal, no período de maio de 2009 a outubro de 2010. Não houve critérios de exclusão para o estudo.

Trata-se de estudo secundário, com coleta de sangue originalmente destinada a projeto de estudo da associação de hemorragia peri e intraventricular e produção de radicais livres e inflamação intrauterina. O tamanho da amostra inicial foi de 125 RN, considerando um poder amostral de 80%. Assim, no presente estudo, foi calculado, posteriormente, o poder da amostra para verificar se o número de RN foi suficiente para responder ao desfecho proposto.

A coleta de sangue de cordão umbilical foi efetuada no momento do parto, após o nascimento do RN e antes da dequitação da placenta, por punção dos vasos umbilicais, constituindo-se em amostra mista, arterial e venosa. A seguir, o material foi distribuído em três frascos, sendo dois com anticoagulante e um tubo seco. As amostras foram encaminhadas imediatamente a um laboratório especializado da instituição para pronto processamento. Para a dosagem de IL-6, o soro obtido foi congelado a -80 °C até a realização do ensaio pelo método de Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA, Duo Set, R & D Systems, EUA). Os resultados foram expressos em pg/mL. A concentração de GR nos eritrócitos foi determinada por espectrofotometria através do método de Beutler et al.¹², modificado por Penna¹³, e valores expressos em mg% em relação ao hematócrito. A concentração de ROI pelos granulócitos foi determinada por citometria de fluxo em amostra de sangue total, colhido em frascos contendo ácido etilenodiamino tetraEDTA¹⁴. De cada paciente, estudou-se a liberação do ROI pelos polimorfonucleares de duas formas: uma espontânea (ou basal), com os leucócitos incubados apenas em solução de Hanks, e outra estimulada, sendo os leucócitos incubados com forbol-miristato acetato. Os resultados foram expressos em nMol de superóxido/10⁶ células/tempo de incubação.

As características maternas e do RN e as dosagens bioquímicas foram agrupadas de acordo com o uso materno de corticosteroide.

Corticoterapia antenatal (CAN) foi definida como o uso de corticosteroide sistêmico (betametasona) pela mãe durante a gestação com a finalidade de aceleração da maturidade fetal. Primeiramente, avaliou-se o uso ou não do medicamento, independentemente do tempo de uso e do número de doses, e, assim, avaliaram-se dois grupos: "CAN sim" se a mãe recebeu a medicação e "CAN não" se ela não a recebeu. O ciclo completo foi definido quando a gestante recebeu duas doses de 12 mg de betametasona com intervalos de

24 horas, e o nascimento da criança ocorreu pelo menos 24 horas após a segunda dose do medicamento; e o ciclo incompleto, quando a mãe recebeu as duas doses, porém o parto ocorreu em menos de 24 horas após a segunda dose de betametasona. Desse modo, as mães que receberam somente uma dose de betametasona foram avaliadas apenas no primeiro agrupamento.

Considerou-se 7 dias como o tempo máximo entre a administração do esteroide e o nascimento.

Para efeito de comparação entre os grupos de corticoterapia, foram obtidas as seguintes variáveis maternas: idade, doença hipertensiva (específica da gestação e/ou crônica), eclâmpsia, diabetes melito, trabalho de parto, tipo de parto, apresentação fetal, sofrimento fetal agudo, corioamnionite clínica e infecção materna periparto. A corioamnionite clínica foi definida como a presença de febre materna anteparto, sem outro motivo aparente, associada a um dos seguintes sinais: útero sensível ao toque, taquicardia materna e/ou fetal, fisometria, leucocitose¹⁵. A infecção materna periparto foi caracterizada como a presença de quadro infeccioso sistêmico na mãe 48-72 horas antes do nascimento (infecção do trato urinário, pneumonia ou sepsis).

Do RN, foram obtidas as variáveis: peso ao nascer, idade gestacional, estado nutricional¹⁶, sexo, valores de Apgar de 1º e 5º minuto e necessidade de reanimação em sala de parto.

A distribuição das variáveis categóricas foi expressa por frequência. Os valores dos níveis séricos de ROI, GR e IL-6 foram expressos como mediana e percentis 25 e 75. O teste do qui-quadrado e/ou teste de Fisher, quando necessário, e a razão de risco com intervalo de confiança de 95% (IC95%) foram utilizados para comparação das variáveis categóricas. Para comparação das medianas de ROI, GR e IL-6 em relação ao uso antenatal de corticosteroide, bem como para análise das variáveis potencialmente confundidoras, foi utilizado o teste de Mann-Whitney. O nível de significância aceito foi de $p < 0,05$. O programa estatístico utilizado foi o Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 15.0 for Windows.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição, sob o parecer número 971/2008.

Resultados

Durante o período de estudo, nasceram na maternidade do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas (SP), 138 crianças com peso inferior a 1.500 g. Não foram incluídos 13 RN, pois não foi possível a coleta de sangue. Permaneceram para a análise do estudo, 125 crianças (89,92%). O número de mães foi de 111, uma vez que houve 18 gestações múltiplas (15 duplas e três triplas). Como o critério de entrada no estudo foi o peso de nascimento, nem todos os gemelares dessas gestações foram incluídos, pois em sete situações o peso de nascimento de algum gemelar foi superior ao limite de 1.500 g. Não houve nenhum caso de recusa dos pais para autorização de coleta de sangue umbilical.

O corticosteroide utilizado em todas as situações foi betametasona. Observou-se que 92/111 (82,88%) das mães receberam a medicação. Dezesseis delas (17,4%) receberam apenas uma dose de betametasona antes do nascimento da criança, e 82,60% delas receberam o ciclo completo.

Em relação ao uso ou não de betametasona antenatal, os grupos foram comparáveis entre si, e não houve diferenças entre os grupos em relação às variáveis maternas e de parto, exceto a ocorrência de parto vaginal, o qual foi associado significativamente com a ausência de tratamento ($p = 0,04$ e razão de risco de 1,549, IC95% 1,048-2,288).

Em relação às variáveis neonatais, não houve associação significativa entre o uso antenatal de betametasona e as variáveis avaliadas (Tabela 1). Na análise das variáveis maternas ou neonatais que poderiam alterar os valores dos marcadores, não houve diferença estatisticamente significativa para nenhuma delas.

Em relação às dosagens bioquímicas de ROI, GR e IL-6, não foi possível a dosagem em todas as 125 amostras de sangue umbilical devido à coagulação da amostra, impossibilitando a dosagem de ROI e GR, ou hemólise, a qual impossibilitou a dosagem de IL-6. Para análise final, houve dosagem em 98 amostras de ROI basal, 99 dosagens para o ROI estimulado, 100 quantificações de GR e, para IL-6, 121 determinações.

No tocante ao efeito do uso materno antenatal de corticosteroide sobre os níveis sanguíneos dos marcadores, quando se analisou o uso, independentemente do tempo e da dose do medicamento, observou-se que não houve diferenças estatisticamente significativas nas medianas dos três testes nos grupos com e sem uso do medicamento. Quando a mãe recebeu o ciclo completo de betametasona, observou-se uma diminuição significativa nos valores de medianas da produção basal de ROI e de IL-6 (Tabelas 2 e 3). Observou-se um alto poder do teste em relação à produção basal de ROI e, quando do uso de ciclo completo de CAN, para a produção de IL-6.

Discussão

No presente estudo, observou-se um percentual de 83% de mães que receberam betametasona antenatal. Esses dados são superiores às taxas verificadas nos últimos anos na instituição em questão, onde se observou uma média de utilização de 67,5% entre os anos de 2006 e 2009¹⁷. Dados da Rede Brasileira de Pesquisas Neonatais, entre 2006 e 2010, à época, com oito centros participantes, apontam taxas menores de utilização de corticosteroide antenatal, variando entre 51 e 57%¹⁷. Tal uso, nessa instituição, tem sido possível graças ao empenho da equipe de obstetrícia local em oferecer tal tratamento a toda gestante com possibilidade de parto prematuro antes de 34 semanas de gestação, associado ou não ao uso de tocolíticos¹⁸⁻²⁰.

A opção por definir o ciclo completo como aquele em que há uso de duas doses de betametasona, com intervalo de 24 horas entre elas, e o nascimento ocorre pelo menos 24 horas após a segunda dose, foi arbitrária. Não existe consenso na literatura quanto ao tempo "ótimo" de ação do

Tabela 1 - Distribuição das variáveis maternas e neonatais segundo o uso de corticosteroide antenatal

	CAN		p
	Sim (103)	Não (22)	
Idade materna, mediana (p25-p75) (anos)	27 (14-44)	22,50 (13-42)	0,2701*
Doença hipertensiva	50/103 (48,5)	8/14 (57,1)	0,352 [†]
Eclâmpsia	2 (1,9)	0	1,00 [†]
Diabetes melito	7 (6,7)	0	0,352 [†]
Trabalho de parto	36(34,5)	13 (59,1)	0,053
Parto vaginal	16 (15,5)	10 (45,4)	0,004 [‡]
Sufrimento fetal agudo	37 (35,9)	5 (22,7)	0,322 [†]
Infecção materna	14 (13,6)	4 (18,1)	0,521 [†]
Corioamnionite	6 (5,8)	4 (18,1)	0,074 [†]
Peso ao nascer, mediana (p25-p75) (g)	1.010 (855-1.265)	955 (775-1.295)	0,726*
Idade gestacional, mediana (p25-p75) (semanas)	29 (28-32)	29(26-33)	0,782*
Sexo masculino	55 (53,4)	12 (54,5)	1,00 [†]
Apgar 1º minuto ≥ 7	70 (67,9)	11 (50,0)	0,089 [‡]
Apgar 5º minuto ≥ 7	98 (95,1)	18 (81,8)	0,052 [‡]
Reanimação	36 (34,9)	13 (59,0)	0,053 [†]
PIG	45 (43,7)	8 (36,3)	0,637 [†]

Variáveis categóricas expressas em frequência, n (%), exceto onde indicado de outra forma.

CAN = corticoterapia antenatal; p25-p75 = percentil 25 a 75; PIG = pequeno para idade gestacional.

* Teste de Mann-Whitney.

[†] Teste de Fisher.

[‡] Teste do qui-quadrado.

Tabela 2 - Valores de ROI basal e estimulado, glutatona e IL-6 em sangue de cordão umbilical de recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso, segundo o uso materno de corticosteroide

	Uso de corticosteroide				p*	Poder do teste
	Sim		Não			
	Valores	n	Valores	n		
ROI basal	0,4 (0,4-0,5)	81	0,5 (0,4-0,5)	17	0,2512	0,95
ROI estimulado	33,7 (17,75-106,97)	82	74,3 (25,4-214,45)	17	0,1086	0,70
Glutaciona	69,31 (63,23-80,79)	84	72,45 (61,78-81,26)	16	0,9439	0,55
IL-6	34,20 (14,12-60,55)	101	30,93 (13,26-63,59)	20	0,9750	0,30

Valores expressos em mediana (percentil 25-75).

Valores de glutaciona em mg%.

IL-6 = interleucina-6 (pg/ml); ROI = intermediários reativos do oxigênio (nMol/10⁶ cel.).

* Teste de Mann-Whitney.

medicamento, sendo preconizado que a mãe receba as duas doses de betametasona. Como no nosso estudo avaliamos a ação do medicamento sobre marcadores bioquímicos e não sobre variáveis clínicas, hipotetizamos que haveria necessidade de um tempo mínimo de ação do mesmo. Como não há nenhuma referência na literatura quanto a esse tempo "ótimo", estipulamos como 24 horas a linha de corte. Desse modo, as mães que receberam somente uma dose de betametasona foram incluídas apenas na análise que diferenciou as mães com e sem CAN.

Ao avaliarmos o efeito da administração de betametasona sobre a produção de ROI, GR e IL-6, a ação só foi observada

quando ocorreu o ciclo completo. A produção basal de ROI e de IL-6 foi significativamente suprimida pela administração de betametasona quando a mãe recebeu as duas doses da medicação e o nascimento ocorreu pelo menos 24 horas depois da segunda dose. Isso implica em uma ação tempo-dependente do medicamento.

Tal efeito supressor pode ser considerado positivo na medida em que a medicação suprime parte do estresse oxidativo e inflamatório ao qual o feto está submetido no trabalho de parto prematuro, de modo a proporcionar uma transição neonatal precoce mais equilibrada e, dessa forma, menos sujeita a distúrbios hemodinâmicos graves.

Tabela 3 - Valores de ROI basal e estimulado, glutatona e IL-6 em sangue de cordão umbilical de recém-nascidos pré-termo de muito baixo peso, segundo o uso do ciclo completo de corticosteroide antenatal

	Ciclo completo				p*	Poder do teste
	Sim		Não			
	Valores	n	Valores	n		
ROI basal	0,40 (0,4-0,5)	64	0,50 (0,4-0,5)	17	0,0389	0,90
ROI estimulado	28,40 (17,15-102,75)	65	41,80 (19,90-117,75)	17	0,3749	0,40
Glutaciona	69,52 (63,03-81,28)	67	69,10 (63,28-76,05)	17	0,9602	0,07
IL-6	30,16 (13,89-57,36)	82	54,83 (16,12-177,27)	19	0,0243	0,91

Valores expressos em mediana.

Valores de glutaciona em mg%.

IL-6 = interleucina-6 (pg/ml); ROI = intermediários reativos do oxigênio (nMol/10⁶ cel.).

* Teste de Mann-Whitney.

O efeito inibidor dos esteroides sobre a produção de ROI não implica em um efeito imunossupressor negativo, mas, na realidade, agiria no sentido de imunomodulação, uma vez que intercorrências gestacionais e de parto podem estar associadas a uma ativação excessiva, intensa e prolongada de radicais livres e, conseqüentemente, à lesão celular e tecidual. Como demonstrado experimentalmente, o neutrófilo humano fetal é capaz de produzir radicais superóxidos tão eficientemente quanto as células de adultos^{21,22} e, diante de estímulos excessivos, poderia estar associado à lesão celular e tecidual.

A produção estimulada de ROI não se mostrou estatisticamente diferente nos dois grupos de estudo de corticoterapia. Citarella et al., em estudo realizado com leucócitos polimorfonucleares de RN a termo, também demonstraram que, após estimulação com N-formil-metionil-leucil-fenilalanina, a geração de radicais superóxidos aumentava significativamente, mas não havia aumento suplementar quando, ao meio de cultura, eram adicionadas interleucina-10 ou dexametasona²³.

É possível que o aumento da amostra pudesse verificar se esse achado se mantém, uma vez que o poder amostral foi inferior a 80%. Por outro lado, poderíamos argumentar que, como se trata de estimulação artificial *in vitro*, isso talvez não reflita as complexas condições de estímulos biológicos *in vivo*. Além disso, as funções dos neutrófilos se alteram à medida que migram da circulação para os tecidos^{23,24}.

Em relação à produção de glutaciona, não observamos ação supressora da betametasona. Tal efeito pode ser considerado protetor, pois, uma vez que não há diminuição desse sistema neutralizador de radicais livres do oxigênio e associado a menor produção de radicais superóxidos, haveria menores chances de lesão oxidativa do feto/RN. Além disso, a ausência de supressão se torna benéfica, pois os níveis de glutaciona diminuem rapidamente nos primeiros dias de vida nos RN pré-termo em decorrência do aumento do estresse

oxidativo associado ao nascimento^{25,26}. No entanto, o baixo poder da amostra não permite a extrapolação dos resultados, necessitando-se uma amostra maior para uma melhor avaliação desse efeito.

A IL-6 é considerada a principal citocina envolvida no desenvolvimento da síndrome da resposta inflamatória fetal, definida inclusive pelo nível sérico da citocina e associada à corioamnionite e funisite^{27,28}.

O efeito da betametasona antenatal sobre a produção fetal de IL-6 tem sido pouco estudado. Kavelaars et al.²⁹ não encontraram supressão de síntese de IL-6 em células humanas de cordão umbilical de fetos a termo e pré-termo. No entanto, Kramer et al.⁹, em trabalhos experimentais com neutrófilos de ovelhas pré-termo, demonstraram que a betametasona administrada à mãe produzia supressão na produção de IL-6 após 15 horas.

Arad et al.³⁰ demonstraram que a medicação administrada a mulheres em trabalho de parto prematuro foi associada a um número menor de RN com altos níveis de IL-6 (definido como > 11 pg/mL).

No nosso estudo, houve uma associação significativa entre os níveis séricos umbilicais de IL-6 e o uso do ciclo completo de betametasona pela mãe, o que pode ser explicado por se tratar de efeito *in vivo* e com outros estimulantes associados em ação, não presentes nas condições de cultura celular. Tal efeito pode ser entendido como benéfico, pois suprimiria o excesso de mediadores inflamatórios presentes no trabalho de parto prematuro. Metanálise sobre o uso antenatal de esteroides demonstram um efeito protetor na incidência de infecção sistêmica neonatal nas primeiras 48 horas de vida [risco relativo (RR) = 0,56 IC95% 0,38-0,85]².

Uma limitação do estudo é que as análises foram feitas em sangue de cordão umbilical, o que reflete as condições perinatais relacionadas ao nascimento prematuro. Tal desenho de estudo foi feito, pois se pretendeu avaliar os efeitos fetais da betametasona administrada à mãe. No entanto,

seria valiosa a comparação dos mesmos marcadores quando avaliados em sangue pós-natal, pois o medicamento ainda exerce graus variáveis de efeitos e, ainda, para se verificar o efeito do nascimento e das condições de vida extra-uterina sobre os mediadores inflamatórios e de estresse oxidativo.

Outro ponto de limitação do trabalho é que o poder da amostra foi insuficiente para alguns testes, pois o tamanho amostral original foi calculado para o desfecho clínico de hemorragia peri e intraventricular.

Desse modo, o efeito bioquímico do corticosteroide administrado à mãe sobre a produção de ROI e de IL-6 poderia ser o fator determinante na proteção conferida pela medicação na origem de doenças neonatais associadas com estresse oxidativo e inflamação, como a hemorragia peri e intraventricular e distúrbios hemodinâmicos precoces.

Em resumo, a administração de ciclo completo de betametasona à mãe exerceu um efeito supressor sobre a produção basal de ROI e de IL-6 em RN pré-termo de muito baixo peso. Desse modo, o estudo serve de base para avaliação do uso antenatal de corticosteroide, dos marcadores estudados e a evolução clínica dos RN, especialmente nas doenças decorrentes da ação de radicais livres e inflamação intra-uterina.

Referências

- Miracle X, Di Renzo GC, Stark A, Fanaroff A, Carbonell-Estray X, Saling E. [Guideline for the use of antenatal corticosteroids for fetal maturation](#). *J Perinat Med*. 2008;36:191-6.
- Roberts D, Dalziel S. [Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth](#). *Cochrane Database Syst Rev*. 2006;3:CD004454.
- Mwansa-Kambafwile J, Cousens S, Hansen T, Lawn JE. [Antenatal steroids in preterm labour for the prevention of neonatal deaths due to complications of preterm birth](#). *Int J Epidemiol*. 2010;39:i122-33.
- Buonocore G, Perrone S, Longini M, Vezzosi P, Marzocchi B, Paffetti P, et al. [Oxidative stress in preterm neonates at birth and on the seventh day of life](#). *Pediatr Res*. 2002;52:46-9.
- Saugstad OD. [Oxidative stress in the newborn--a 30-year perspective](#). *Biol Neonate*. 2005;88:228-36.
- Gitto E, Reiter RJ, Karbownik M, Tan DX, Gitto P, Barberi S, et al. [Causes of oxidative stress in the pre- and perinatal period](#). *Biol Neonate*. 2002;81:146-57.
- Davis JM, Auten RL. [Maturation of the antioxidant system and the effects on preterm birth](#). *Semin Fetal Neonatal Med*. 2010;15:191-5.
- Dandona P, Thusu K, Hafeez R, Abdel-Rahman E, Chaudhuri A. [Effect of hydrocortisone on oxygen free radical generation by mononuclear cells](#). *Metabolism*. 1998;47:788-91.
- Kramer BW, Ikegami M, Moss TJ, Nitsos I, Newnham JP, Jobe AH. [Antenatal betamethasone changes cord blood monocyte responses to endotoxin in preterm lambs](#). *Pediatr Res*. 2004;55:764-8.
- Trindade CE, Rugolo LM. [Free radicals and neonatal diseases](#). *NeoReviews*. 2007;8:e522-31.
- Perrone S, Negro S, Tataranno ML, Buonocore G. [Oxidative stress and antioxidant strategies in newborns](#). *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2010;23:63-5.
- Beutler E, ed. *Red Cell Metabolism*. New York: Churchill Livingstone; 1986. 126p.
- Penna SP. [Níveis de GR e atividade da catalase, superóxido dismutase e glicose-6-fosfato desidrogenase em indivíduos expostos ao vapor de mercúrio \[dissertação\]](#). Campinas: Universidade Estadual de Campinas;1995.
- Richardson MP, Ayliffe MJ, Helbert M, Davies EG. [A simple flow cytometry assay using dihydrorhodamine for the measurement of the neutrophil respiratory burst in whole blood: comparison with the quantitative nitrobluetetrazolium test](#). *J Immunol Methods*. 1998;219:187-93.
- Thomas W, Speer CP. [Chorioamnionitis: important risk factor or innocent bystander for neonatal outcome](#). *Neonatology*. 2011;99:177-87.
- Alexander GR, Himes JH, Kaufman RB, Mor J, Kogan M. [A United States national reference for fetal growth](#). *Obstet Gynecol*. 1996;87:163-8.
- Rede Brasileira de Pesquisas Neonatais. [www.redeneonatal.fiocruz.br](#). Acesso: 19/07/2011.
- Chien LY, Ohlsson A, Seshia MM, Boulton J, Sankaran K, Lee SK; Canadian Neonatal Network. [Variations in antenatal corticosteroid therapy: a persistent problem despite 30 years of evidence](#). *Obstet Gynecol*. 2002;99:401-8.
- Di Renzo GC, Al Saleh E, Mattei A, Koutras I, Clerici G. [Use of tocolytics: what is the benefit of gaining 48 hours for the fetus?](#) *BJOG*. 2006;113:72-7.
- Behrman RE, Butler AS; Institute of Medicine, Committee on Understanding Premature Birth and Assuring Healthy Outcomes, eds. [Preterm birth: causes, consequences, and prevention](#). Washington: National Academies Press; 2007.
- Newburger PE. [Superoxide generation by human fetal granulocytes](#). *Pediatr Res*. 1982;16:373-6.
- Strauss RG, Snyder EL. [Activation and activity of the superoxide-generating system of neutrophils from human infants](#). *Pediatr Res*. 1983;17:662-4.
- Citarella BV, Miskolci V, Vancurova I, Davidson D. [Interleukin-10 versus dexamethasone: effects on polymorphonuclear leukocyte functions of the newborn](#). *Pediatr Res*. 2009;65:425-9.
- Coldren CD, Nick JA, Poch KR, Woolum MD, Fouty BW, O'Brien JM, et al. [Functional and genomic changes induced by alveolar transmigration in human neutrophils](#). *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2006;291:L1267-76.
- Te Braake FW, Schierbeek H, de Groof K, Vermes A, Longini M, Buonocore G, et al. [Glutathione synthesis rates after amino acid administration directly after birth in preterm infants](#). *Am J Clin Nutr*. 2008;88:333-9.
- Rook D, Te Braake FW, Schierbeek H, Longini M, Buonocore G, Van Goudoever JB. [Glutathione synthesis rates in early postnatal life](#). *Pediatr Res*. 2010;67:407-11.
- Gomez R, Romero R, Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Berry SM. [The fetal inflammatory response syndrome](#). *Am J Obstet Gynecol*. 1998;179:194-202.
- 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;183:1124-9.
- Kavelaars A, van der Pompe G, Bakker JM, van Hasselt PM, Cats B, Visser GH, et al. [Altered immune function in human newborns after prenatal administration of betamethasone: enhanced natural killer cell activity and decreased T cell proliferation in cord blood](#). *Pediatr Res*. 1999;45:306-12.
- Arad I, Bar-Oz B, Ergaz Z, Nir A, Barak V. [Interleukin-6 and N-terminal pro-brain natriuretic peptide cord blood levels in premature infants: correlations with perinatal variables](#). *Isr Med Assoc J*. 2010;12:419-23.

Correspondência:

Jamil Pedro de Siqueira Caldas
Rua Major Luciano Teixeira, 31, apto. 62, Bonfim
CEP 13070-746 - Campinas, SP
E-mail: jamil_pedro@uol.com.br