

PAULO ROBERTO BEZERRA DE MELLO

Determinação dos níveis de 2, 3 - Difosfo-  
glicerato em recém-nascidos a termo,  
com sofrimento fetal agudo, e pré-  
termo, e seu efeito sobre A P 50

Dissertação apresentada ao Curso de  
Pós-Graduação — Mestrado em Pedia-  
tria, da Universidade Federal do Paraná,  
para obtenção do título de Mestre.

CURITIBA

1 9 8 2

## AGRADECIMENTOS

Inúmeras contribuições recebemos para a realização deste trabalho. Gostaríamos, por isso, de expressar nosso agradecimento a todos quantos, de qualquer forma, colaboraram, mas, principalmente:

ao Prof. Dr. Izrail Cát, coordenador dos Cursos de Pós - Graduação - Mestrado em Pediatria;

ao Prof. Dr. Dinarte José Giraldi, pela orientação e pela atenção dedicada a este trabalho;

ao Prof. Dr. Nelson Egydio de Carvalho, pela co-orientação;

a Semíramis e Carlos Cotta, pelo estímulo;

ao Prof. Dr. Manuel Alves dos Santos, pela orientação técnica;

aos Profs. Drs. Gilda Kasting, Leide Parolin Marinoni e Noboro Miasaki, pela colaboração;

aos Profs. Drs. Marta Duarte de Barros e Wilson Valente da Silva, pelo apoio na realização deste curso;

aos Bioquímicos Antônio Franco e Maria Alice Kichel, pela orientação nas determinações laboratoriais;

ã Sr.<sup>ta</sup> Suzana Guimarães Castilho e suas auxiliares, pela ajuda na organização do material bibliográfico;

ao Prof. Juarez Gabardo pela orientação na análise estatística;

aos Srs. Diretores, aos colegas médicos, residentes e plantonistas, dos estabelecimentos médico-hospitalares de Curitiba, que colaboraram na colheita do material:

- Maternidade do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná;

- Clínica e Maternidade Nossa Senhora do Rosário;

- Maternidade Nossa Senhora de Fátima;

- Hospital de Maternidade Santa Brígida;

- Maternidade Curitiba;

ao Prof. Rui Caldas, pelo auxílio na terminologia bioquímica;

ao Dr. Amilay Rodrigues Dias, pela revisão, no tocante à linguagem do texto;

ao Sr. Wilson Louly, pela realização do trabalho gráfico;

a Sra. Suely Terezinha Kaminski Luiz, pelo trabalho datilográfico e,

aos colegas do Curso de Pós-Graduação e, em particular a Manuel Bondespacho do Nascimento, pelas idéias, pela discussão delas e pelo trabalho conjunto.

Dedico este trabalho

A Cremilda, minha mãe;  
a Márcia Beatriz, companheira;  
aos recém-nascidos.

## Í N D I C E

	Página
01 - INTRODUÇÃO	01
02 - OBJETIVOS	27
03 - CAUSÍSTICA	30
04 - MATERIAL E MÉTODOS	36
05 - RESULTADOS	47
06 - DISCUSSÃO	60
07 - CONCLUSÕES	79
08 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
09 - ANEXOS	103

I N T R O D U Ç Ã O

## INTRODUÇÃO

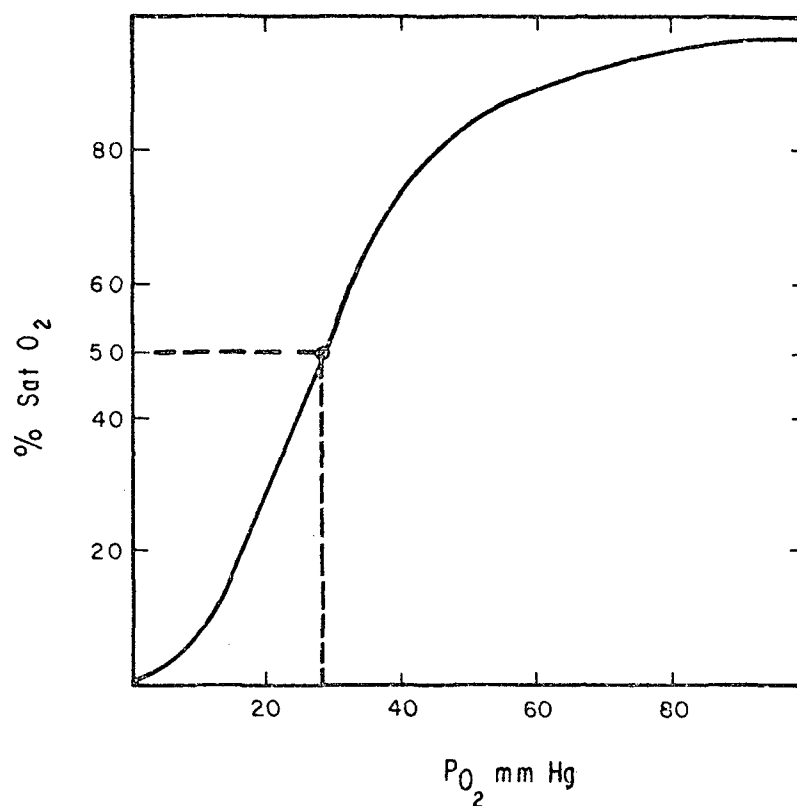
A evolução das noções sobre transporte de oxigênio aos tecidos, é um bom exemplo de como conhecimentos, já existentes a nível da fisiologia, ganham explicações bioquímicas, e de como novas descobertas na biologia molecular podem levar a novas revelações em campos relacionados, tais como a própria fisiologia e a clínica <sup>20</sup>.

O sistema de transporte de oxigênio é composto de três elementos: (1) o débito cardíaco, (2) a concentração de hemoglobina funcional e (3) a diferença artério-venosa da saturação de oxigênio <sup>31,85</sup>. A saturação da hemoglobina pelo oxigênio, ou seja, a proporção de seus sítios de ligação com o oxigênio que estão ocupados <sup>43,132</sup>, é fornecida pela Curva de Dissociação da Oxi-hemoglobina (CDO), onde a percentagem de saturação é vista a diferentes pressões parciais de oxigênio <sup>134</sup> (Figura 1).

O comportamento da CDO e suas alterações como um todo, são traduzidos pela  $P_{50}$ , a pressão parcial de oxigênio, na qual a hemoglobina está 50% saturada de oxigênio <sup>44,132</sup>. Pode ser descrita como  $P_{50}(7,4)$ , que é aquela expressa à temperatura de 37°C, pH de 7,4 e  $PCO_2$  de 40mm de Hg <sup>68,82</sup>, ou como  $P_{50}(iv)$ , isso é, "in vivo", quando se faz a correção para os níveis de pH do paciente <sup>19,68</sup>.

FIGURA 1

## CURVA DE DISSOCIAÇÃO DA OXI-HEMOGLOBINA



Curva de Dissociação da Oxi-hemoglobina (CDO) do sangue adulto normal. A  $P_{50}$ , a tensão de oxigênio com 50% de saturação de hemoglobina pelo oxigênio, é de aproximadamente 27mm de mercúrio <sup>107</sup>.

Esse comportamento e suas alterações são reflexos do arranjo estereoquímico da molécula de hemoglobina e de fatores que nele influenciam <sup>148</sup>.

A hemoglobina humana é uma proteína de forma esferoidal, medindo 65 x 55 x 50 Å, com peso molecular de 64.400 daltons, composta de quatro cadeias polipeptídicas iguais, duas a duas, tendo ligada, a cada cadeia, uma molécula de heme, que é um complexo de ferro e protoporfirina <sup>28,78,148</sup>. A uma simples cadeia polipeptídica combinada com um único heme, corresponde um monômero ou subunidade de hemoglobina, e ao conjunto de quatro destes, um tetâmero <sup>112</sup>.

Os tipos dessas cadeias diferenciam as moléculas de hemoglobina entre si: na hemoglobina tipo adulto (Hb-A), o tetrâmero se constitui de duas cadeias  $\alpha$  e de duas cadeias  $\beta$ ; na hemoglobina fetal (Hb-F), as cadeias  $\beta$  se encontram substituídas por duas cadeias polipeptídicas  $\gamma$  <sup>28</sup>. Cada cadeia  $\alpha$  contém 141 aminoácidos, e as cadeias  $\beta$  e  $\gamma$  apresentam 146 <sup>28</sup>, diferindo entre si em 39 aminoácidos <sup>79</sup>.

O arranjo tetraédrico das quatro cadeias, combinadas em torno de um eixo de simetria dupla, vem a compor a sua estrutura espacial. Alterações reversíveis nesse arranjo estão em íntima relação com a função desempenhada pela hemoglobina: um carreador respiratório de duplo sentido, que transporta  $O_2$  para os tecidos e facilita o transporte de retorno do  $CO_2$  <sup>114</sup>.

Nota-se, pela forma sigmóide da Curva de Dissociação da Oxi-hemoglobina, que as moléculas de hemoglobina captam lentamente as

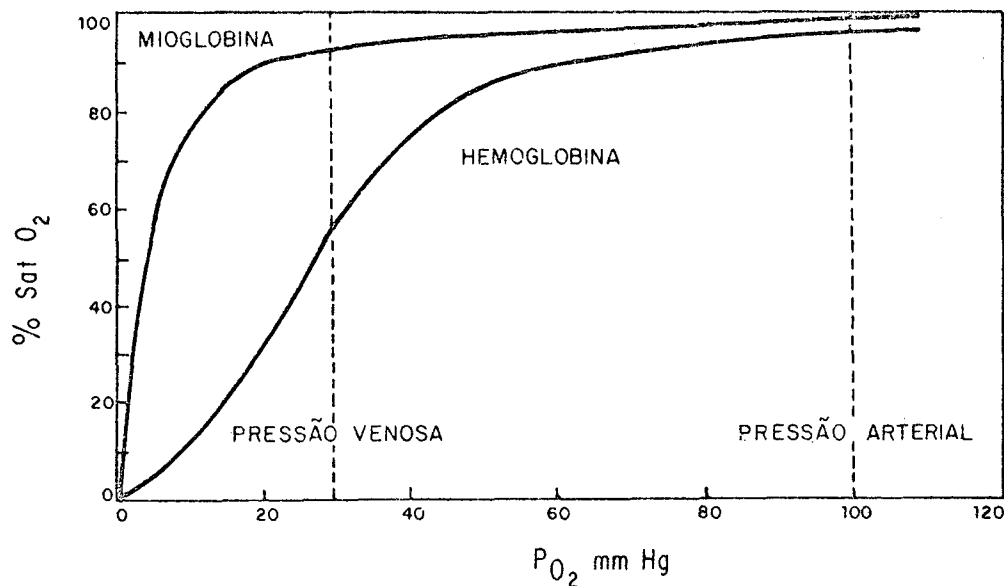
moléculas de  $O_2$  a baixa saturação; mas, a partir de um ponto de inflexão, ocorre uma aceleração nas ligações Hb -  $O_2$ , representada, graficamente, por uma retificação e maior inclinação da curva <sup>112</sup> (Figura 2).

A mioglobina, composta de uma única cadeia polipeptídica e um único grupamento heme, similar em estrutura e constituição, a uma subunidade  $\beta$  da hemoglobina A, apresenta sua curva de saturação em forma de hipérbole retangular, onde a saturação aumenta rapidamente na proporção do aumento da pressão parcial de  $O_2$  <sup>112</sup>.

A comparação entre as curvas de dissociação da mioglobina e da hemoglobina, sugeriu algum tipo de comunicação entre os hemes de cada molécula de hemoglobina, à medida que se aumenta a pressão parcial do oxigênio. A esse fenômeno denominou-se interação heme-heme, representado, numericamente, pelo "Coeficiente de Hill- n", que é a tangente da maior inclinação da curva <sup>74, 112</sup>. O propósito fisiológico da interação heme-heme basear-se-ia não tanto em se assegurar uma afinidade pelo  $O_2$  aumentada, mas, em fazê-la cair enquanto moléculas sucessivas de oxigênio se dissociam da hemoglobina <sup>113</sup>.

O conhecimento do processo na intimidade da molécula, veio a ser mostrado por Perutz e colaboradores <sup>78</sup>. Ao analisarem a posição das quatro cadeias polipeptídicas em relação umas às outras, por meio de técnica de difração de raios X, aqueles autores demonstraram que a oxi-hemoglobina tem uma estrutura espacial diferente da deoxi-hemoglobina <sup>78,148</sup>. Verificaram que as superfícies de contato entre as cadeias polipeptídicas diferiam, na dependência, ou

FIGURA 2



A curva de dissociação mostra a afinidade, pelo oxigênio, da hemoglobina e de uma molécula mais simples, a mioglobina (uma proteína do músculo). Ao contrário da hemoglobina, a mioglobina tem apenas um grupamento heme e uma cadeia polipeptídica, lembrando uma única subunidade da hemoglobina. A curva de mioglobina é hiperbólica; ela absorve oxigênio rapidamente, mas, torna-se saturada a baixa pressão. A curva da hemoglobina é sigmóide; inicialmente a hemoglobina demora em se ligar ao oxigênio, mas sua afinidade aumenta com a captação deste. À pressão de oxigênio arterial, ambas as moléculas estão saturadas; mas, a uma pressão venosa, a mioglobina liberaria apenas 10% do seu oxigênio, enquanto a hemoglobina libera aproximadamente a metade.

não, da ligação da hemoglobina a outras substâncias <sup>148</sup>. Sob deoxigenação, a molécula sofre uma acentuada mudança na sua conformação quaternária, a cadeia  $\beta$  rodando lateralmente em torno  $7 \text{ \AA}$  <sup>28</sup> ou  $15^\circ$  em redor do eixo de simetria da molécula <sup>112</sup>.

A deoxi-hemoglobina é estabilizada em uma configuração denominada T (tensa), pela presença de ligações polares entre ou intra subunidades, as quais, com a adição de oxigênio, se quebram seqüencialmente. A molécula de oxi-hemoglobina, com seus sítios de ligação preenchidos, se apresenta em uma configuração chamada R (relaxada), onde existe consideravelmente menos energia entre as subunidades da molécula. A hemoglobina, numa visão dinâmica, não é apenas um depósito de oxigênio, mas um "pulmão molecular", pois muda de estrutura cada vez que capta ou libera oxigênio <sup>112</sup>.

A forma sigmóide da curva de saturação, explicada inicialmente em termos de agregação de moléculas <sup>74</sup>, passa a ser vista, não como uma interação direta entre os hemes, mas determinada em termos de afinidade das estruturas R (Oxi) e T (Deoxi) <sup>112</sup>. Em algum ponto, provavelmente após a ligação da segunda, ou terceira molécula de oxigênio, a estrutura espacial muda globalmente da conformação Deoxi para Oxi, o que aumenta a afinidade pelo oxigênio das cadeias remanescentes <sup>33, 78, 112</sup>.

O mecanismo estereoquímico acionador destas mudanças conformacionais está relacionado com modificações que ocorrem no átomo de ferro de cada heme após a ligação com o oxigênio. Movimentos concatenados da estrutura protéica da hemoglobina, servem para amplificar uma pequena mudança da posição do átomo de ferro no plano do anel porfirínico <sup>112</sup>.

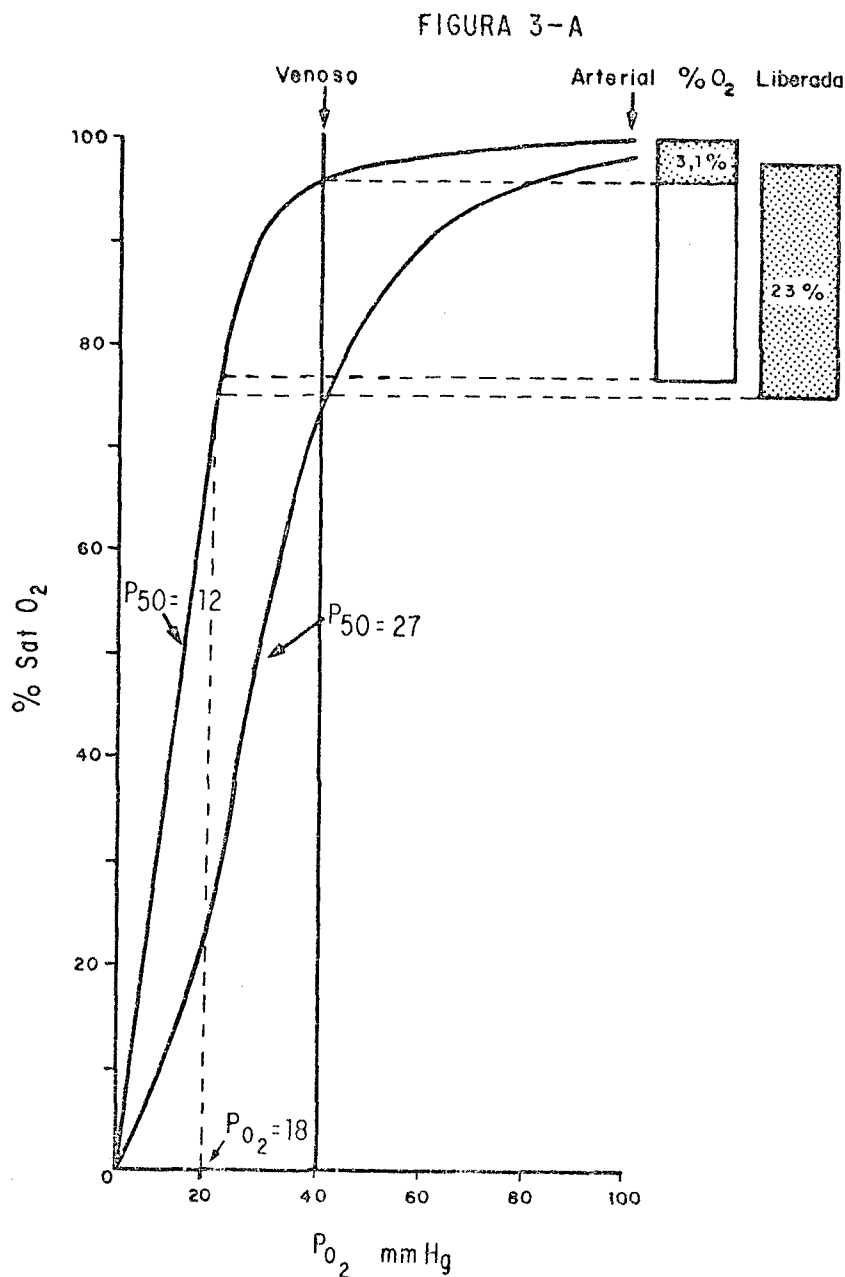
A afinidade da hemoglobina pelo oxigênio e, conseqüentemente, a  $P_{50}$ , sofre o efeito de diversos fatores, como pH,  $PCO_2$ , temperatura, concentração de monóxido de carbono e concentração iônica, tipo de hemoglobina e conteúdo de fosfatos orgânicos intra-eritrocitários - principalmente 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) e trifosfato de adenosina (ATP) <sup>13, 31, 45, 73, 107, 116, 123</sup>.

Mantida a afinidade normal, o sangue arterial em um adulto está 98% saturado, e o sangue venoso, a uma  $PO_2$  de 40 mm de Hg, se encontra saturado em 75%. Significa, isso, que 23% do oxigênio originalmente presente é liberado aos tecidos na sua passagem pelo leito capilar <sup>133</sup>.

Os fatores que desviam a CDO para a esquerda (diminuem a  $P_{50}$ ), determinam um aumento de saturação do sangue venoso (mantida a mesma pressão parcial de  $O_2$  do sangue) e, desse modo, fazem com que menos oxigênio seja liberado da hemoglobina para os tecidos. Nessa situação, para que haja a liberação do mesmo percentual de oxigênio, a  $PO_2$  venosa necessita diminuir. Isso, contudo, significaria uma diminuição na pressão capilar terminal a valores criticamente baixos <sup>43, 107, 136</sup>.

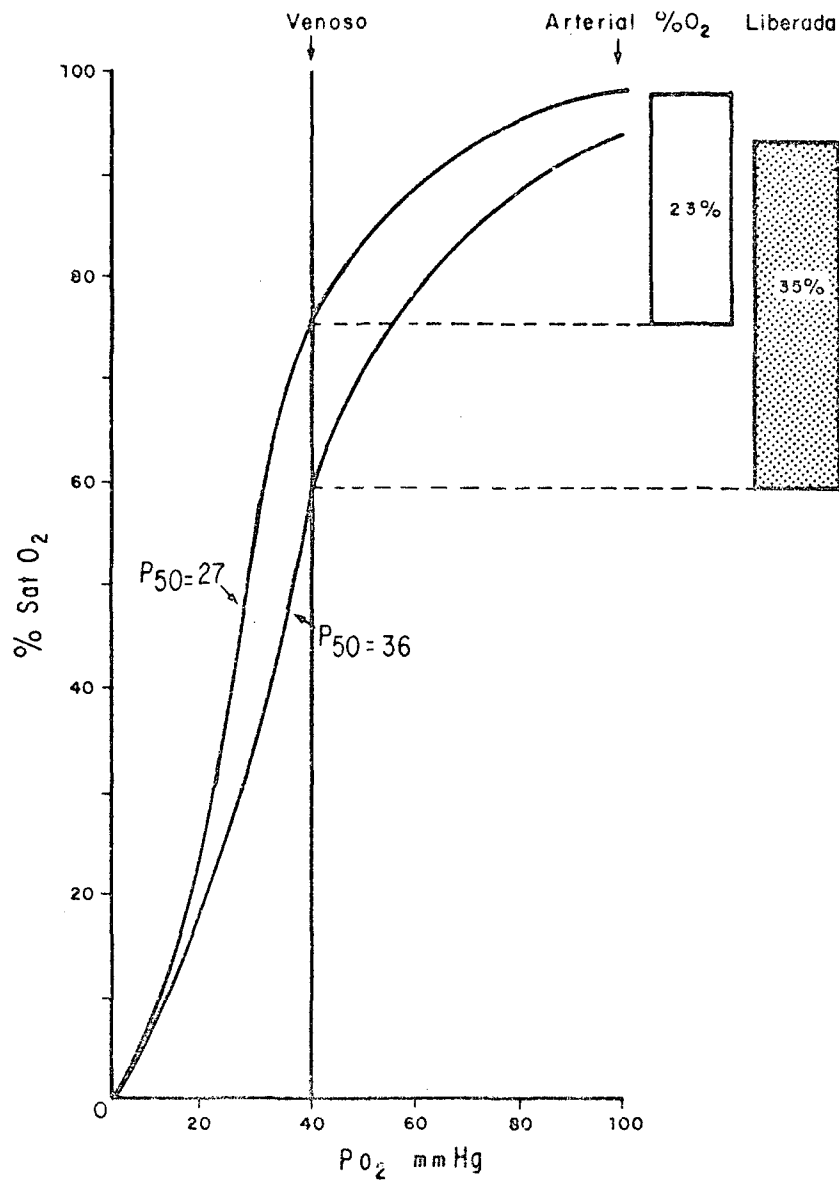
Quando a curva de saturação sofre um desvio para a direita e a  $P_{50}$ , conseqüentemente, aumenta, mantida a mesma  $PO_2$  venosa, observa-se uma queda na saturação do sangue venoso. Tal significa que maior percentagem de oxigênio está sendo liberada aos tecidos <sup>107, 136</sup> (Figuras 3-a e 3-b).

Os efeitos da concentração hidrogeniônica são conhecidos desde o início do Século, quando foram descritos por Bohr <sup>116,</sup>



A CDO de um adulto normal ( $P_{50} = 27$  mm de Hg), mostra a liberação de 23% de oxigênio com a queda da  $P_{O_2}$  de 90 para 40 mm de Hg. A curva desviada para a esquerda representa a CDO de um sangue com afinidade aumentada pelo oxigênio (diminuição de 2,3-DPG, da temperatura e da  $PCO_2$ , alcalose, hemoglobina fetal, etc). A  $P_{50}$  é de 12 mm de Hg (hipotética) e este sangue liberaria apenas 3,1% de seu oxigênio com a diminuição da  $P_{O_2}$  de 90 para 40 mm de Hg. Para que um percentual, semelhante ao de uma curva em posição normal, fosse liberado, a  $P_{O_2}$  venosa necessitaria estar a níveis criticamente baixos, o que significaria uma baixa pressão parcial de oxigênio ao nível capilar, com pobre difusão aos tecidos <sup>134</sup>.

FIGURA 3-B



A CDO desviada para a direita (aumento de 2,3-DPG, da PCO<sub>2</sub> e da temperatura, acidose, hemoglobinas de baixa afinidade), comparada a CDO de um adulto normal (P<sub>50</sub> = 27mm de Hg). Sua P<sub>50</sub> é de 36mm de Hg e este sangue libera 35% de seu oxigênio com a queda da P<sub>O<sub>2</sub></sub> venosa para 40mm de Hg <sup>134</sup>.

123. O assim chamado "efeito Bohr" resume-se na fórmula:

$$\frac{\Delta \log P_{O_2}}{\Delta \log pH} = \text{Coeficiente de Bohr}$$

O "efeito Bohr" resulta da presença de aminoácidos, que são ácidos mais fracos na deoxi-hemoglobina que na oxi-hemoglobina. A forma Deoxi aceita mais protons e a molécula é assim estabilizada por ligações iônicas, que se formam inter e intra cadeias. Portanto, o aumento da concentração hidrogeniônica desvia o equilíbrio em direção à forma deoxigenada e, em consequência, a CDO para a direita. Em condições de alcalose, o desvio se processa de forma inversa 132, 148.

Essas alterações podem ser produzidas por ácidos ou bases fixas, a  $PCO_2$  constante (Coeficiente de Bohr = -0,40), ou induzido por alterações na concentração de  $CO_2$  apenas (Coeficiente de Bohr = -0,48). O  $CO_2$ , além da alteração na afinidade, produzida por mudar o pH do meio, tem 20% de seu "efeito Bohr" devido a seu próprio efeito molecular na hemoglobina, combinando-se com quatro aminoácidos N terminais, formando compostos carbamínicos 99, 132.

Os efeitos da temperatura são descritos pela fórmula:

$$\Delta \log P_{O_2} = 0,024 \Delta T,$$

em que as mudanças de afinidade são diretamente proporcionais àquelas sofridas pela temperatura 125.

O monóxido de carbono, do mesmo modo que a alcalose, desvia a CDO para a esquerda e altera a forma da curva, tornando-a

mais hiperbólica <sup>00</sup>. O aumento da concentração iônica, quando muito acentuado, desvia (a CD0) para a direita <sup>18, 45</sup>. Muitas formas variantes de hemoglobina podem ter sua afinidade pelo oxigênio alterada. A hemoglobina fetal, por exemplo, apresenta uma maior afinidade e, dessa maneira, a sua curva de dissociação é deslocada para a esquerda. Por outro lado, outras hemoglobinas têm sua afinidade diminuída e, desse modo, as suas curvas desviam-se para a direita <sup>78</sup>.

Dos fosfatos orgânicos, o 2,3-DPG participa na hemácia de um mecanismo adaptativo intrínseco, que age como regulador do transporte de oxigênio aos tecidos <sup>85,88</sup>. Esse composto, presente em concentração significativa apenas nas hemácias <sup>107,134</sup>, já era conhecido desde 1925 e intrigava os investigadores por não ser, ao contrário do ATP e ADP, um material rico em energia <sup>126</sup>. Paralelamente, sabia-se que a diálise de soluções de hemoglobina resultava em diminuição na sua afinidade com o oxigênio, sugerindo que algum material dialisável (não a hemoglobina de per si), seria responsável pela diferença naquela afinidade <sup>05</sup>.

Benesch & Benesch <sup>21</sup> e Chanutin & Curnish <sup>36</sup>, quase simultaneamente, descobriram que ésteres de fosfatos orgânicos têm efeito na oxigenação da hemoglobina e que desses ésteres o 2,3-DPG e o ATP têm influência idêntica e mais efetiva <sup>21</sup>. A concentração em bases molares de 2,3-DPG, contudo, é em torno de quatro vezes a do ATP <sup>21, 36, 134</sup> e aproximadamente se iguala à da hemoglobina <sup>88, 126</sup>.

A função do 2,3-DPG no transporte de oxigênio envolve o equilíbrio entre as estruturas T e R. Por ser um composto anio

nicamente forte, apresentando a pH fisiológico, cerca de três cargas negativas e meia <sup>28</sup>, sua distribuição de cargas se ajusta à cavidade central da molécula, entre duas cadeias  $\beta$  no estado T, onde se encontram, dispostos, grupos positivamente carregados <sup>28, 81</sup> (Figura 4). Essa ligação é específica na hemoglobina A, para as cadeias  $\beta$ , existindo um sítio específico de 2,3-DPG por molécula de deoxi-hemoglobina <sup>78</sup>, que envolve os grupos imidazóis das histidinas ( $\beta - 143$ ). As ligações do oxigênio e do 2,3-DPG são mutuamente exclusivas e a oxigenação da hemoglobina em presença de 2,3-DPG pode ser assim escrita:

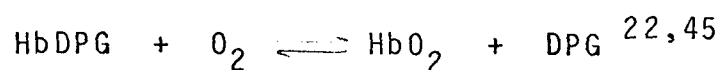
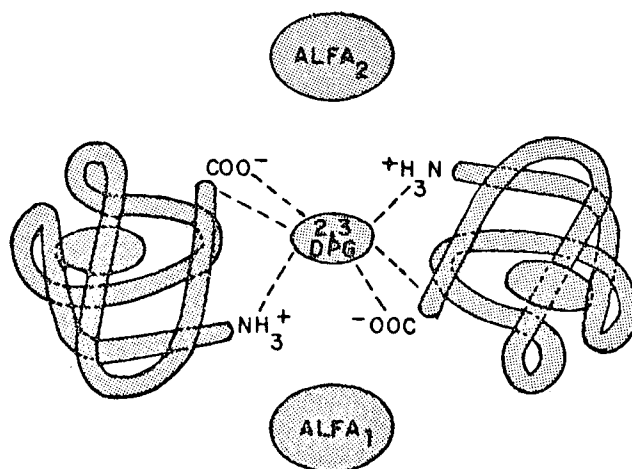


FIGURA 4



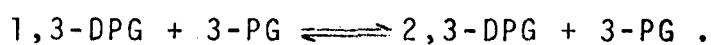
Os sítios de ligação do 2,3-DPG às cadeias  $\beta$  da hemoglobina adulta são: histidina na 143<sup>a</sup> posição, os grupamentos aminoterminais (N) e os grupamentos carboxila terminais <sup>46</sup>.

Estabilizando o estado T, como a queda do pH, o 2,3-DPG estabiliza a conformação de baixa afinidade com o oxigênio, verificando-se portanto, desvio da CDO para a direita. O inverso é verdadeiro para os casos de baixos níveis de 2,3-DPG, onde ocorre um aumento da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio <sup>134</sup>.

O 2,3-DPG é um dos metabólitos intermediários da via glicolítica do eritrócito <sup>78</sup>. Na maioria das células dos mamíferos, a glicólise está associada com a defosforilação de 1,3-difosfoglicerato (1,3-DPG) diretamente para 3-fosfoglicerato (3-PG). No eritrócito, essa reação sofre em parte (20%), um desvio para a formação intermediária de 2,3-DPG <sup>92</sup>, numa reação lateral da via de Embden-Meyerhof, conhecida como via de Rapoport-Leubering.

O 2,3-DPG é sintetizado a partir de 1,3-DPG pela enzima mutase do 2,3-difosfoglicerato e hidrolisado a monofosfoglicerato por uma fosfatase específica, fosfatase do 2,3-difosfoglicerato <sup>120</sup>, conforme figura 5.

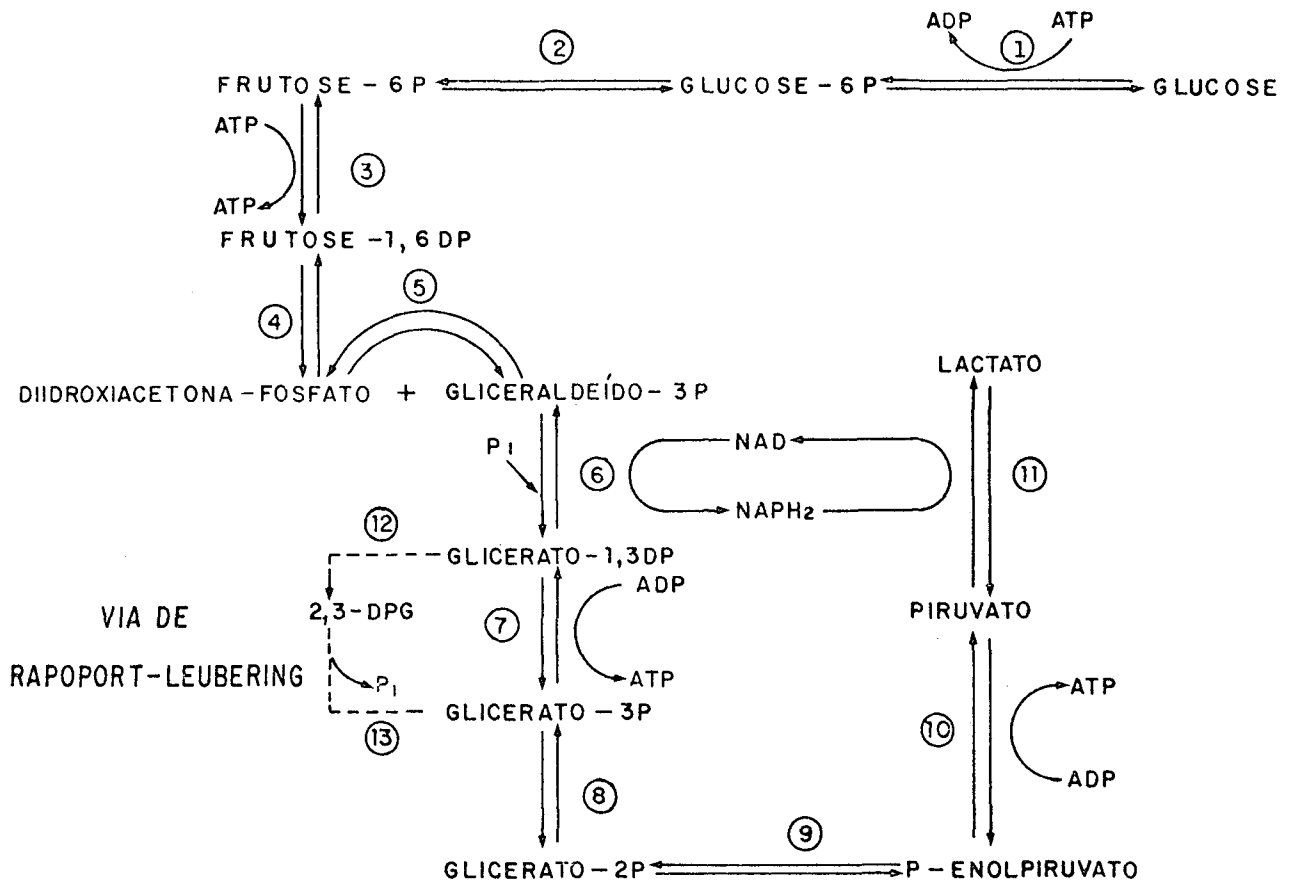
O intermediário 1,3-DPG é substrato comum para as enzimas quinase do 3-fosfoglicerato e mutase do 2,3-difosfoglicerato <sup>78</sup>. A enzima mutase do 2,3-difosfoglicerato catalisa a transferência de fosfato do 1,3-DPG para 3-PG, formando 2,3-DPG <sup>120</sup>:



Sua velocidade é determinada, principalmente, pelos níveis de 1,3-DPG e 2,3-DPG, sendo muito sensível à inibição por esse seu produto <sup>78,120</sup>. Já a enzima responsável pela catálise de 2,3-DPG para 3-PG, fosfatase do 2,3-difosfoglicerato, sofre inibição dos monofosfogliceratos 3-PG e 2-PG <sup>120</sup>.

FIGURA 5

## VIA DE EMBDEM - MEYERHOF



- 1- HEXOQUINASE
- 2- ISOMERASE DA GLUCOSE 6 FOSFATO
- 3- QUINASE DA FRUTOSE-6 FOSFATO
- 4- ALDOLASE
- 5- ISOMERASE DA TRIOSE FOSFATO
- 6- DESIDROGENASE DO GLICERALDEÍDO-3 FOSFATO
- 7- QUINASE DO 3-FOSFOGLICERATO
- 8- MUTASE DO 3-FOSFOGLICERATO
- 9- ENOLASE
- 10-QUINASE DO PIRUVATO
- 11-DESIDROGENASE LÁCTICA
- 12-MUTASE DO 2,3- DIFOSFOGLICERATO
- 13-FOSFATASE DO 2,3 - DIFOSFOGLICERATO

Mais recentemente, foi aventado que o ciclo de Rapoport & Leubering estaria sob controle de uma única enzima (mutase do 2,3-difosfoglicerato), a qual seria bifuncional, ou seja, teria tanto atividade mutase como fosfatase <sup>71, 78</sup>.

Os fatores que regulam os níveis de 2,3-DPG dentro do eritrócito são complexos e, em muitas ocasiões, inter-relacionados <sup>78</sup>.

Estudos, em indivíduos submetidos à hipóxia por grandes altitudes, mostraram níveis elevados de 2,3-DPG <sup>60, 85</sup>. A resposta à hipoxemia seria mediada por mudanças na glicólise eritrocitária, envolvendo a via de Rapoport & Leubering <sup>122</sup>. Como os fosfatos orgânicos reagem apenas com hemoglobina deoxigenada, quanto maior a quantidade desta presente, maior a quantidade de 2,3-DPG ligado. A enzima mutase do 2,3-DPG, assim liberada de seu potente inibidor, aceleraria a síntese de 2,3-DPG livre <sup>60, 85, 122</sup>.

Esse mecanismo foi suficiente para explicar o achado de concentrações aumentadas de 2,3-DPG secundárias à hipóxia de diferentes etiologias, como as secundárias à insuficiência cardíaca congestiva <sup>88</sup>, cardiopatias congênitas cianóticas e como a de portadores de doenças pulmonares crônicas <sup>108</sup>.

No entanto, se a hipóxia se acompanha de uma acidose provocada seja "in vitro", seja "in vivo" <sup>59, 85</sup>, não ocorre o aumento do 2,3-DPG induzido pela hipóxia.

Outros mecanismos propostos parecem ter maior importância na relação dos níveis de 2,3-DPG, tanto nos estados hipóxicos co

mo em outras condições <sup>78</sup>. Dentre estes, o efeito da concentração hidrogeniônica, a qual exerce atividade através de seu efeito sobre a glicólise <sup>11, 93, 120</sup>.

Dados termodinâmicos indicam que as reações catalisadas pelas enzimas hexoquinase, quinase da frutose-6-fosfato e quinase do piruvato, são os pontos limitantes no processo glicolítico eritrocitário, onde ocorre a maior parte das mudanças em energia livre da glicólise <sup>94</sup>. Dessas enzimas, a quinase da frutose-6-fosfato seria fortemente dependente do pH <sup>95</sup>, ocorrendo sua inibição, rapidamente, com a diminuição dos valores de pH <sup>106</sup>. Segundo Astrup e colaboradores <sup>12</sup>, o conteúdo de 2,3-DPG dependeria do pH intra-eritrocitário e, conseqüentemente, do pH plasmático <sup>11</sup>. Assim, a acidose diminuiria o 2,3-DPG, como, há algum tempo, já havia sido demonstrado por Rapoport "in vitro" <sup>118</sup>; e a alcalose, estimulando a glicólise eritrocitária, aumentaria os níveis de 2,3-DPG <sup>12</sup>.

Nos estados hipóxicos, a baixa saturação de hemoglobina aumentaria o pH eritrocitário, por ser, a deoxi-hemoglobina, mais alcalina que a oxi-hemoglobina, além da contribuição da hiperventilação freqüentemente vista nesses estados <sup>78, 92, 119, 141</sup>. A influência se efetiva por serem, o metabolismo do 2,3-DPG e a glicólise, muito sensíveis a pequenas variações de pH <sup>59</sup>.

As alterações de pH intracelular também alteram a atividade das enzimas mutase do 2,3-DPG e fosfatase do 2,3-DPG. Em conseqüência de uma alcalose, além da síntese aumentada de 2,3-DPG, verifica-se também uma diminuição de sua degradação <sup>119</sup>.

Estudos clínicos, em pacientes com cetoacidose diabética, demonstraram forte correlação dos níveis de 2,3-DPG com o pH ar

terial<sup>04, 19, 68</sup>. O mesmo fato foi constatado com o pH intra-eritrocitário, seja em condições de acidose, seja nas de alcalose<sup>52, 141</sup>.

Como a um pH fisiológico, o 2,3-DPG é um ânion altamente carregado, ele próprio também influenciaria a distribuição de prótons de cada lado da membrana eritrocitária. Altos níveis de 2,3-DPG estão associados a uma diminuição reflexa do pH intracelular<sup>92</sup>. Isso confere ao 2,3-DPG um "efeito próton", o aumento de sua concentração intra-eritrocitária determinaria uma diminuição adicional da afinidade da hemoglobina com o oxigênio<sup>88</sup>. Essas alterações no pH têm importância, porque o aumento da concentração hidrogeniônica intra-eritrocitária, devido ao aumento da concentração de 2,3-DPG, limita o estímulo à síntese deste, decorrente da hipóxia<sup>92</sup>.

Além do pH intracelular, o nível de fósforo também interfere na síntese de 2,3-DPG, por ser um fator regulador da glicólise<sup>78</sup>. Pacientes não acidóticos em insuficiência renal, frequentemente, apresentam níveis aumentados de 2,3-DPG. Esse aumento correlaciona-se bem com a concentração extracelular de fósforo e com a  $P_{50}$  elevada de tais pacientes<sup>40</sup>.

A regulação do 2,3-DPG hemático se constitui num mecanismo adaptativo útil da hemácia, para regular o transporte de oxigênio aos tecidos<sup>85, 135</sup>.

Enquanto a resposta circulatória a uma hipóxia é rápida e de duração limitada, e a mudança de concentração de hemoglobina leva semanas para se processar<sup>85</sup>, o intervalo para alterações

dos níveis de 2,3-DPG é intermediário, de três <sup>19, 134</sup>, a seis horas <sup>85</sup> após a alteração do pH.

Sabe-se, desde 1939, que o sangue fetal tem, pelo oxigênio, maior afinidade que o sangue adulto <sup>08</sup> e que essa diferença deve-se à presença da hemoglobina fetal (Hb-F) <sup>125</sup>. No entanto, medidas de  $P_{50}$ , feitas após a diálise de soluções de hemoglobina, mostraram que, para ambas as hemoglobinas, fetal e adulta, existe idêntica afinidade. Esses estudos sugeriram que deveria haver algum outro fator independente da estrutura intrínseca da molécula de hemoglobina <sup>05, 17, 46, 124</sup>.

Com a adição de 2,3-DPG às soluções dialisadas de hemoglobina, descobriu-se haver uma diferença de resposta na mudança de afinidade, aumentando-se a  $P_{50}$  em 50% para a Hb-A e em 14% para a Hb-F <sup>17, 138</sup>. Por reagir menos com o 2,3-DPG <sup>53</sup>, a Hb-F tem sua configuração T ou Deoxi menos estabilizada em relação a sua configuração R ou Oxi; na ausência ou na menor ligação ao 2,3-DPG, a molécula de hemoglobina permanece, portanto, mais saturada, sem que se altere a  $P_{O_2}$ .

Embora a maior parte das 39 substituições na cadeia  $\gamma$  tenha pouco efeito nas propriedades fisiológicas da molécula, seja por estarem na sua superfície externa, seja por serem feitas com aminoácidos similares, importante diferença entre Hb-A e Hb-F advém de uma substituição no sítio de ligação do 2,3-DPG, histidina ( $\beta$ -143) <sup>87, 143</sup>.

A histidina, um aminoácido positivamente carregado, tem sua posição ocupada por um aminoácido com carga neutra - seri

na, que não pode ligar compostos negativamente carregados como 2,3-DPG <sup>46</sup>.

Diferenças adicionais fazem com que a hemoglobina fetal não seja funcionalmente uma única proteína, mas, ao contrário, que se constitua de dois compostos designados Hb-F II e Hb-F I <sup>143</sup>, correspondendo a 80 e 20%, respectivamente, do total <sup>46</sup>.

Enquanto o componente Hb-F II tem a fórmula  $\alpha_2\gamma_2$ , Hb-F I tem, bloqueadas por grupamentos acetil, ambas as terminações N das cadeias <sup>84, 143</sup>.

Quando ambos os resíduos histidina ( $\beta$ -143) e  $\beta$ -N terminal estão totalmente reativos como na hemoglobina A, ocorre uma máxima modificação na afinidade com o oxigênio <sup>105</sup>. Se a Hb-F II mostra ainda 20% de diminuição de tal afinidade após a adição de 2,3-DPG, o componente Hb-F I, por ter ambos os resíduos ocupados, não manifesta nenhuma diminuição <sup>29</sup>. A substituição da histidina ( $\beta$ -143) e o bloqueio dos grupos N terminais, resultam numa completa falta de interação com o 2,3-DPG <sup>143</sup>.

A difusão transplacentária de oxigênio seria facilitada pelo fato de a Curva de Dissociação da Oxi-hemoglobina do sangue fetal estar situada à esquerda da do sangue materno <sup>88</sup>, e por este sofrer, na gestação, um desvio para a direita, conseqüente da elevação de 2,3-DPG <sup>130, 144</sup>.

A maior afinidade da hemoglobina com o oxigênio, a maior concentração de hemoglobina e o maior débito cardíaco, traduzem mecanismos de adaptação do feto para aumentar a quantidade de

oxigênio transportada por unidade de tempo <sup>88, 107, 144</sup>.

O sangue materno chega à placenta com uma  $PO_2$  de aproximadamente 100 mm de Hg e 98% de saturação e pH de 7,4. No espaço viloso, o pH cai, e a  $PO_2$  é de 45 mm de Hg, o que representa cerca de 50% de saturação <sup>143</sup>.

O sangue fetal, em virtude de sua baixa  $P_{50}$ , pode atingir, a baixa  $PO_2$ , uma saturação suficiente. O sangue retorna para o feto com  $PO_2$  de, aproximadamente, 30 mm de Hg, o que significa 70% de saturação a um pH de 7,4. A  $PO_2$ , nos tecidos fetais, pode chegar a atingir 15 mm de Hg, e uma liberação de 50% do conteúdo de oxigênio ocorre em virtude da natureza vertical da curva de dissociação para baixos valores da  $PO_2$  <sup>143</sup>.

O "efeito Bohr" intervêm no curso das trocas gasosas placentárias, aumentando a diferença da  $PO_2$  entre o sangue materno e o fetal. Quando o  $CO_2$  deixa o sangue fetal, a curva de dissociação é desviada para a esquerda; e, inversamente, quando é captado pelo sangue materno, a curva desvia-se para a direita, facilitando a captação e liberação de oxigênio alternadamente <sup>87,89</sup>.

A hemoglobina fetal é o principal pigmento respiratório desde a vida intra-uterina precoce até o nascimento <sup>44, 46, 143</sup>. Ela é precedida de duas hemoglobinas embrionárias, Gower 1 e Gower 2, com cadeias  $\epsilon_4$  e  $\alpha_2\epsilon_2$  respectivamente, que não foram demonstradas após a 8ª ou 10ª semana de vida intrauterina. Os estudos de hemácias com esses tipos de hemoglobina, mostraram afinidades com o oxigênio semelhantes às das células do cordão umbilical <sup>143</sup>.

A Hb-A está presente a partir de, aproximadamente, 8 semanas de gestação, e se torna a hemoglobina predominante durante os três primeiros meses após o parto <sup>42, 87, 143</sup>.

Altos níveis de Hb-F persistem durante a vida intra-uterina (90 a 95%), até em torno de 30 a 34 semanas de gestação, passando a diminuir gradualmente a uma velocidade de 3 a 4% por semana, para alcançar níveis de 50 a 85% com 40 semanas <sup>44,46,143</sup>.

Embora os fatores que regulam a produção das cadeias não estejam esclarecidos <sup>87</sup>, vários autores têm mostrado correlação inversa entre a percentagem de Hb-F e a idade gestacional <sup>03,14, 26,35,44</sup>.

Da mesma forma, a afinidade do sangue fetal com o oxigênio também diminui, significativamente, com a idade gestacional <sup>14, 51, 102</sup>. Essa diminuição deve-se, principalmente, ao aumento na percentagem de hemoglobina adulta <sup>14</sup>. Embora alguns estudos demonstrem que os níveis de 2,3-DPG aumentam, de modo significativo, com a gestação <sup>51, 102</sup>, mais recentemente, sugeriu-se que esses resultados eram influenciados pela condição de nascimento <sup>14</sup>.

A posição da Curva de Dissociação da Oxi-hemoglobina, no recém-nascido, é determinada pelas proporções relativas de Hb-F e Hb-A, presentes, e pela concentração de 2,3-DPG hemático <sup>14,105, 141</sup>. Como a ligação de 2,3-DPG com a hemoglobina fetal é de pouco mais de 1/3 daquela do adulto <sup>29, 138</sup>, a estreita correlação obtida entre 2,3-DPG e  $P_{50}$  no sangue de adulto, não se observa no sangue do recém-nascido <sup>91, 102, 107</sup>. Neste, a  $P_{50}$  se correlaciona, em intensidade crescente, com a percentagem de hemoglobi

na fetal, com a "Fração Funcionante do 2,3-DPG" e com a "Fração Efetiva do 2,3-DPG". Considera-se "Fração Funcionante", o produto da percentagem de Hb-A existente pela concentração de 2,3-DPG; "Fração Efetiva" é um conceito que leva em consideração o discreto efeito do 2,3-DPG sobre a Hb-F <sup>51, 102</sup>:

"Fração Funcionante do 2,3-DPG" = [ 2,3-DPG ] x %HbA;

"Fração Efetiva do 2,3-DPG" = ' [ 2,3-DPG ] x (%HbA + 0,4x%HbF).

Se, por um lado, o aumento da afinidade é ideal para o feto "in utero", por outro lado, as células fetais são pouco aptas a responderem à hipóxia, devido a sua inabilidade em aumentar a capacidade de ceder oxigênio <sup>46, 105</sup>. Hemácias de recém-nascidos não mostraram aumento de 2,3-DPG quando incubadas com nitrogênio, ao contrário das de adulto, as quais apresentaram rápido aumento <sup>109</sup>, da mesma forma que lactentes menores de um mês não elevam seus níveis de 2,3-DPG proporcionalmente à hipóxia, como as crianças maiores <sup>109, 141</sup>. Recém-nascidos, filhos de mães hipertensas, ou desnutridos intra-uterinos, mostraram níveis normais de 2,3-DPG, a despeito da possível hipóxia a que estiveram submetidos <sup>130, 144</sup>. Por sua vez, sangue adulto, transfundido intra-útero em filhos de mães sensibilizados por incompatibilidade Rh, sob regime de baixa  $PO_2$  do sangue fetal, apresentou, ao nascimento, níveis mais elevados de 2,3-DPG que o sangue de recém-nascidos com a mesma condição mas sem terem recebido transfusão <sup>101</sup>.

Tal como acontecido com os adultos, recém-nascidos com acidose causada por "Doença de Membrana Hialina", também apresentaram diminuição nos níveis de 2,3-DPG <sup>64, 147</sup>. Apesar de os e

feitos do 2,3-DPG serem menores na hemoglobina fetal, nos grupos de prematuros estudados, observou-se concomitante queda nos níveis da  $P_{50}$  <sup>51, 91, 147</sup>. Não foi encontrada correlação entre os níveis de  $PO_2$  e 2,3-DPG; todavia, entre pH e 2,3-DPG <sup>64</sup> e entre pH intra-eritrocitário e 2,3-DPG, boa correlação foi observada <sup>14</sup>.

A medida do pH intra-eritrocitário, independentemente do método utilizado, tem mostrado que este (pH intra-eritrocitário) varia diretamente com o pH do sangue total <sup>14, 15, 52</sup>. Observou-se, em crianças com hipóxia por cardiopatia congênita cianótica, que, a qualquer pH plasmático, a relação entre a concentração hidrogeniônica intra e extra-eritrocitária estava aumentada, sugerindo uma alcalinidade relativa intracelular nessa condição, nessa faixa etária <sup>141</sup>.

Embora impressões iniciais tenham sugerido que os efeitos das variações da CDO devessem se encarar de forma menos entusiástica <sup>126</sup>, por se tratar de um mecanismo fisiológico onde outros, mais eficientes, estão em jogo <sup>83</sup>, a utilização clínica desses conhecimentos tem realçado o seu valor prático <sup>40, 91, 104</sup>.

Defeitos intrínsecos intra-hemáticos, particularmente a deficiência da quinase do piruvato estão associados a níveis elevados de 2,3-DPG, enquanto defeitos na via glicolítica, antes da formação de 2,3-DPG, estão associados a níveis diminuídos. Indivíduos que apresentam deficiência de hexoquinase, apesar de terem níveis de hematócrito semelhantes, toleram pouco o exercício físico, ao contrário daqueles portadores de deficiência na quinase do piruvato, cuja CDO estaria desviada para a direita <sup>40</sup>.

Da mesma forma, estudos em prematuros com "Doença da Membrana Hialina" têm demonstrado o efeito benéfico da exsanguínea transfusão com sangue adulto, por dotá-los de uma hemoglobina com maior capacidade de liberar  $O_2$  aos tecidos <sup>91, 104</sup>.

É de importância terapêutica, a observação de que os níveis de 2,3-DPG se encontram e permanecem baixos após 96 horas de tratamento na ceto-acidose diabética, enquanto que o pH é corrigido rapidamente ao normal. Isso resulta no desvio da CDO para a esquerda, com possível prejuízo do suprimento de oxigênio aos tecidos, situação que é piorada pelo uso de bicarbonato <sup>04,19</sup>.

Não obstante a importância do sofrimento fetal agudo, por sua frequência e como causa de mortalidade perinatal <sup>50</sup>, não encontramos, na literatura, dados que analisem o comportamento da CDO, nessa condição, e a influência dos fatores que o regulem. Não encontramos, também, em nosso meio, relato de estudos sobre transporte de oxigênio em recém-nascidos a termo, e sobre sua variação com a idade gestacional.

Sabe-se que recém-nascidos, que nasceram impregnados de mecônio, mostraram níveis de 2,3-DPG no sangue da veia umbilical, significativamente mais baixos que naqueles não impregnados <sup>98</sup>. Embora os níveis de pH, então encontrados, fossem semelhantes nos dois grupos, e não tenha sido dada a condição de nascimento das crianças estudadas, os resultados poderiam sugerir uma diminuição de 2,3-DPG também em condições de sofrimento fetal agudo.

O conhecimento de que o sofrimento fetal agudo é acompanhado de acidose, já está bem estabelecido <sup>69, 76</sup>; mas, não temos noção de como se com

porta o pH intra-eritrocitário nessa condição, nem de como se relaciona com o pH sangüíneo, e nem de qual seja sua influência sobre os níveis de 2,3-DPG e sobre a  $P_{50}$ . Tampouco, não temos noção do que se pode esperar em relação ao transporte de oxigênio aos tecidos a partir de dados clínicos como o Escore de Apgar.

OBJETIVOS

## OBJETIVOS

1. Verificar os valores da  $P_{50(7,4)}$  e da  $P_{50(iv)}$ , do 2,3-DPG e suas Frações "Funcionante" e "Efetiva", do pH intra-eritrocitário e da diferença entre os valores de pH plasmático e pH intra-eritrocitário em três grupos de recém-nascidos:
  - a termo, eutróficos, sem sofrimento fetal,
  - a termo, eutróficos, com sofrimento fetal e
  - pré-termo, eutróficos, sem sofrimento fetal.
2. Comparar os valores da  $P_{50(7,4)}$ , da  $P_{50(iv)}$ , do 2,3-DPG e suas Frações "Funcionante" e "Efetiva", do pH intra-eritrocitário, bem como os da diferença entre os valores do pH plasmático e pH intra-eritrocitário, entre o grupo de recém-nascidos a termo sem sofrimento fetal, e os grupos de recém-nascidos a termo com sofrimento fetal e recém-nascidos pré-termo.
3. Estabelecer correlação entre os valores de  $P_{50(7,4)}$  e os níveis da hemoglobina fetal, 2,3-DPG e suas Frações "Funcionante" e "Efetiva"; dos valores de pH plasmático com os do pH intra-eritrocitário, nos três grupos de recém-nascidos estudados.
4. Estabelecer correlação entre os valores de pH plasmático e intra-eritrocitário e os valores de 2,3-DPG e

- $P_{50}(7,4)$ ; entre o valores do Escore de Apgar e os valores de 2,3-DPG e  $P_{50}(7,4)$ , nos grupos de recém-nascidos a termo, com e sem sofrimento fetal.
5. Estabelecer correlação entre a Idade Gestacional e os valores de  $P_{50}(7,4)$ , nos grupos de recém-nascidos sem sofrimento fetal, a termo e prē-termo.

CASUÍSTICA

## CASUÍSTICA

A população de estudo constou de recém-nascidos de cinco maternidades da cidade de Curitiba:

1. Maternidade do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná;
2. Clínica e Maternidade Nossa Senhora do Rosário;
3. Maternidade Nossa Senhora de Fátima;
4. Hospital e Maternidade Santa Brígida;
5. Maternidade Curitiba.

Foram incluídas, como participantes, 48 crianças nascidas de parto via vaginal, com ou sem utilização de fórceps, apresentação cefálica, divididas em três grupos:

- i. 17 recém-nascidos a termo, vigorosos, de peso adequado para a idade gestacional (grupo controle);
- ii. 16 recém-nascidos a termo, com sofrimento fetal agudo (SFA) e de peso adequado para a idade gestacional (grupo SFA);
- iii. 15 recém-nascidos pré-termo, vigorosos e de peso adequado para a idade gestacional (grupo pré-termo).

### Critérios de inclusão:

Foram considerados a termo, aqueles recém-nascidos com idade gestacional compreendida entre 38 semanas e 41 semanas e 6 dias, contadas a partir do primeiro dia do último período menstrual; e como pré-termo, aqueles cuja idade gestacional, pelo mesmo critério, esteve compreendida entre 28 semanas e 37 semanas e 6 dias<sup>06</sup>.

A idade gestacional foi verificada pela tabela das características externas e maturidade neurológica do recém-nascido (método de Dubowitz e colaboradores)<sup>37</sup>, aplicada entre 24 e 48 horas de vida.

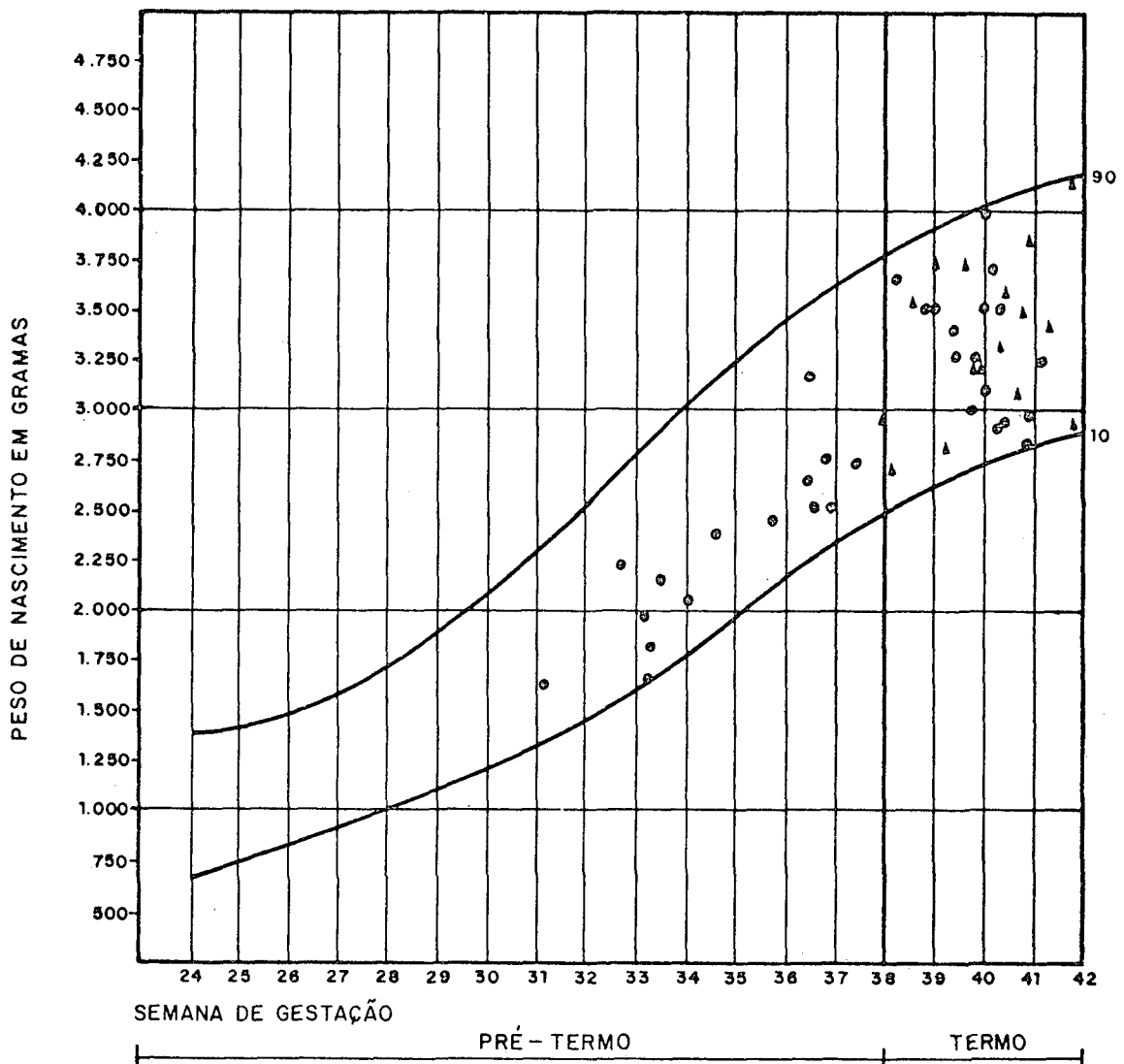
Para os recém-nascidos, nos quais não foi possível uma avaliação neurológica satisfatória, utilizou-se para verificação da idade gestacional, o método de Parkin e colaboradores<sup>111</sup>.

A classificação do estado nutricional foi obtida com a curva de peso elaborada no Hospital do Servidor Público do Estado de São Paulo<sup>121</sup>. Como tendo peso adequado para a idade gestacional, aceitaram-se aqueles recém-nascidos cujo peso, ao nascimento, estivesse entre o 10º e o 90º percentil, considerada a idade gestacional pelo tempo de amenorréia<sup>06</sup> (Figura 6).

O grau de vitalidade foi dado pelo Escore de Apgar, aplicado no primeiro e no quinto minutos de vida<sup>09</sup>, considerando-se:

- Recém-nascidos vigorosos, aqueles que apresentaram uma contagem de Apgar entre 7 e 10 no primeiro minuto, e ausência de impregnação meconial no líquido amniótico, pele, cordão umbilical ou placenta<sup>98</sup>;

Figura 6



Distribuição dos 48 recém-nascidos quanto ao peso, em função da idade gestacional pela amenorrêia, de acordo com a curva de peso elaborada no Hospital do Servidor Público do Estado de São Paulo <sup>121</sup>. Todos os recém-nascidos estão compreendidos entre o 10º e o 90º percentil, linhas superior e inferior respectivamente.

- Recém-nascidos pré-termo e a termo, vigorosos.
- ▲ Recém-nascidos a termo com sofrimento fetal agudo.

- Recém-nascidos com sofrimento fetal agudo (SFA), aqueles cuja contagem de Apgar estêve entre 0 e 6 no primeiro minuto<sup>02</sup>, 56,69.

Foram excluídos os recém-nascidos:

1) De mães que, durante a gestação, fumassem em média, mais de 4 cigarros por dia, ou que tivessem fumado, nas últimas 12 horas antes do parto, conforme interrogatório dirigido, porque a quantidade de carboxi-hemoglobina presente no sangue fetal por monóxido de carbono inalado em decorrência do tabagismo, depende diretamente da quantidade inalada e, inversamente, do tempo que cessou a inalação<sup>41,70,86</sup>;

2) De mães portadoras de "Diabetes Mellitus", por ter sido constatado que seus recém-nascidos pré-termo apresentavam menor concentração de hemoglobina fetal, comparados com recém-nascidos pré-termo de mães não diabéticas<sup>67</sup>;

3) De mães portadoras de cardiopatias com insuficiência cardíaca congestiva, asma brônquica, anemia acentuada, pela possível ocorrência de hipóxia intra-uterina crônica, ocasionando maiores concentrações de hemoglobina fetal<sup>27,131</sup>;

4) De parto gemelar, pela possibilidade de haver transfusão feto-fetal<sup>106</sup>;

5) Com sinais clínicos sugestivos de alterações cromossômicas, pela elevação dos níveis de hemoglobina fetal em recém-nascidos com trissomia D<sup>146</sup>, e pelos menores níveis demonstrados em

recẽm-nascidos com trissomia G (Sĩndrome de Down) <sup>145</sup> ;

6) Com Doençã Hemolĩtica pelo fator Rh, por apresentarem maior sĩntese de hemoglobina A, como resposta ã hemõlise acentuada, no final da gestaçãõ <sup>77</sup>;

7) Com suspeita clĩnica de infecçãõ intra-uterina crõnica, pela possibilidade de desenvolverem anemia <sup>106</sup>.

M A T E R I A L E M É T O D O S

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. COLHEITA DO MATERIAL

O sangue foi colhido diretamente da veia umbilical, logo após a laqueadura e antes da dequitação. O tempo de laqueadura variou de 20 a 60 segundos, sendo de 20 a 45 segundos no grupo controle e no grupo com SFA, e de 40 a 60 segundos no grupo pré-termo.

Utilizaram-se seringas descartáveis de 3ml heparinizadas, para as determinações de gasometria e pH intra-eritrocitário ( $\text{pH}_{ie}$ ); e seringas de 10 ml descartáveis heparinizadas, para as determinações de hematócrito, hemoglobina, 2,3-DPG, hemoglobina fetal e  $\text{P}_{50}$ .

### 2. TRANSPORTE E ACONDICIONAMENTO

Logo após a colheita, as seringas com sangue foram acondicionadas, para transporte, em recipiente térmico com gelo e água, iniciando-se as dosagens num intervalo de 30 a 90 minutos após a colheita<sup>30, 128</sup>.

Também nos intervalos entre leituras de pH, gases,  $\text{pH}_{ie}$  e saturação, o material era acondicionado de forma idêntica.

### 3. GASOMETRIA

O pH plasmático, a  $PCO_2$  e a  $PO_2$  foram determinados até 120 minutos após a colheita, em duplicata, utilizando-se o analisador de pH e gases sanguíneos da Instrumentation Laboratory Inc. (Lexington, Massachusetts), modelo 213. Os valores de Excesso de Base e bicarbonato real, foram obtidos a partir do nomograma de Siggaard-Andersen <sup>127</sup>.

### 4. CONCENTRAÇÃO DE HEMOGLOBINA FETAL

A concentração de hemoglobina fetal foi determinada, em duplicata, pelo método da desnaturação alcalina de Singer et al. <sup>129</sup>. A concentração de Hb-A para o cálculo de "Fração Funcionante de 2,3-DPG" e de "Fração Efetiva de 2,3-DPG" <sup>51, 102</sup>, foi dado como a percentagem restante.

### 5. DETERMINAÇÃO DO HEMATÓCRITO E DA HEMOGLOBINA

A determinação do hematócrito foi feita, em duplicata, em uma centrífuga de micro-hematócrito modelo Autocrit II da Clay Adams (New York, N.Y.).

A dosagem de hemoglobina fez-se, também em duplicata, pelo método da cianometa-hemoglobina.

## 6. DETERMINAÇÃO DE 2,3-DIFOSFOGLICERATO

O 2,3-DPG foi dosado, nas amostras de sangue, pelo método colorimétrico-enzimático, seguindo-se as instruções da Sigma Chemical Corporation (Saint Louis, Missouri) <sup>128</sup>.

Após a extração do sobrenadante livre de proteínas, num intervalo de até 120 minutos depois da colheita, o mesmo era acondicionado a uma temperatura entre 0 e -5°C, para dosagem num intervalo de até 48 horas.

A absorbância foi medida em 660 nm, em um espectrofotômetro modelo Junior II da Coleman Instruments Division (Maywood, Illinois).

Os valores encontrados, expressos em  $\mu$ moles de 2,3-DPG/ml de sangue, foram convertidos para  $\mu$ moles de 2,3-DPG/ml de hemácias conforme a fórmula:

$$\mu\text{moles de 2,3-DPG/ml de hem.} = \frac{\mu\text{moles de 2,3-DPG/ml de sangue}}{\text{hematócrito}} \times 100$$

## 7. DETERMINAÇÃO DO pH INTRA-ERITROCITÁRIO

Utilizou-se a técnica de hemólise por congelação e descongelação descrita por Hillpert e colaboradores <sup>75</sup>, modificada.

Cerca de 2,0 ml de sangue, acondicionados em uma seringa plástica de 3,0 ml (a mesma utilizada para dosagem de pH e gases), eram vedados com um canhão de agulha selado, tomando-se o cuidado de expelir as bolhas de ar porventura existentes. Em seguida,

a seringa era centrifugada a 6600 g por um período de 20 minutos a 4°C, numa centrífuga refrigerada modelo J-21C da Beckman Instruments Inc. (Fullerton, California).

Cerca de 0,3 ml das hemácias sedimentadas era extraída pelo orifício da seringa e transferida diretamente para outra seringa plástica<sup>15</sup> de 1 ml modelo Plastipak da BD Indústrias Cirúrgicas (Juiz de Fora, MG), evitando-se o contato com o ar. Esta seringa era colocada em contato com gelo seco até a congelação de seu conteúdo. Após a descongelação, o pH era medido, em triplicata, no hemolizado das hemácias, com o mesmo eletrodo de pH, usado para dosagem do pH plasmático. O valor do pH intra-eritrocitário considerado, era a média aritmética simples das três leituras.

A determinação estava concluída no intervalo de até 5 horas após a colheita, período no qual não existe alteração do pH intra-eritrocitário, desde que seja acondicionado o material entre 0 e 4°C<sup>15</sup>.

## 8. DETERMINAÇÃO DA P<sub>50</sub>

A determinação da P<sub>50</sub> foi feita pela técnica de mistura<sup>61</sup> modificada. Duas amostras de sangue foram expostas a gases umidificados com diferentes concentrações de oxigênio (3,0% e 4,6%), concentração idêntica de CO<sub>2</sub> (6,3%), complementadas com nitrogênio<sup>55</sup>.

A exposição aos gases foi realizada em dois tonômetros de circuito aberto<sup>25</sup> adaptados.

## 8.1 - Tonômetros de Circuito Aberto

Constituem-se de dois balões de vidro com três tubos também de vidro, fundidos na sua porção superior (Figura 7). Cada balão mede 4,5 cm de diâmetro, e os tubos medem 2,5 cm de comprimento por 1 cm de diâmetro, os quais são vedados por rolhas de borracha para impedir o contato do interior da câmara, com o ar atmosférico.

Os tubos laterais se comunicam com os sistemas de ventilação e saída de gás através de agulhas 25x12, inseridas nas respectivas rolhas de borracha. O tubo central é utilizado para a colheita de sangue através de agulha 90x8, inserida na rolha de borracha e vedada por seu mandril.

O sistema de ventilação se constitui do cilindro de gás e de um recipiente, para umidificação, aquecido, conectados por meio de tubos de latex. O sistema de saída do gás se constitui de um tubo de latex imerso em recipiente com água, prevenindo a entrada de ar ambiente no tonômetro e servindo para controlar o fluxo gasoso na velocidade desejada.

Os dois balões de vidro permanecem imersos em banho-maria a 37°C, fixados a uma haste metálica que se conecta, em uma de suas extremidades, ao sistema de rotação de um agitador modelo 114 da Ética Equipamentos Científicos (São Paulo, S.P.), que lhes dá uma rotação elíptica ao redor de seus eixos perpendiculares da ordem de 150 movimentos por minuto (Figura 8).

FIGURA 7

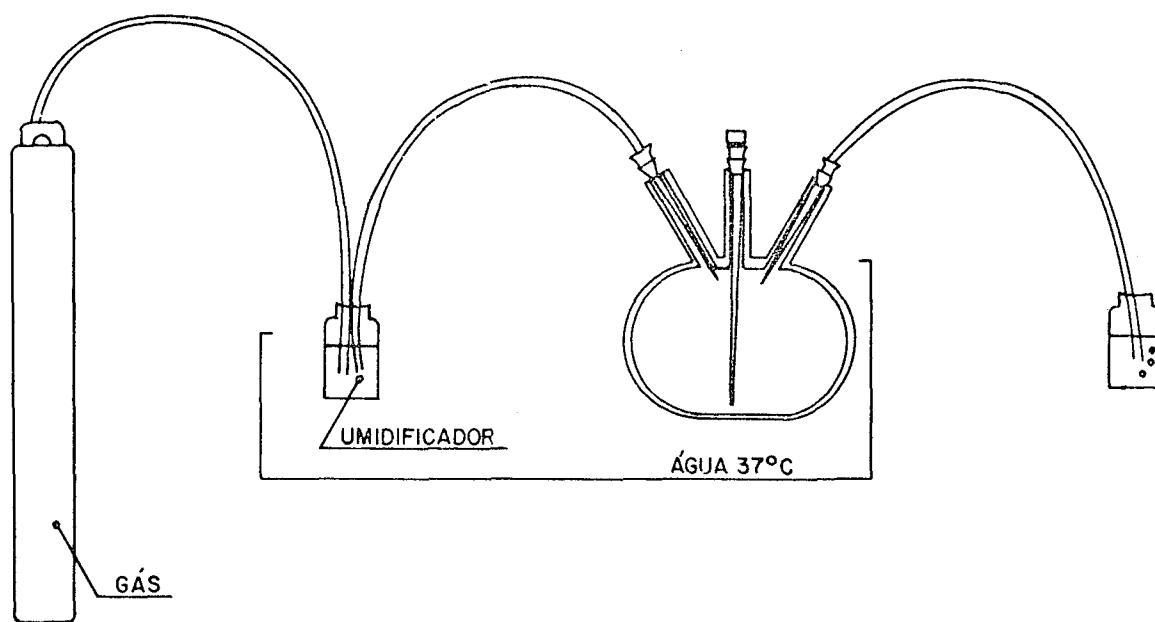


Figura 7 - Representação esquemática de um balão de vidro e dos sistemas de entrada e saída dos gases, bem como do orifício de retirada do sangue. O gás proveniente do cilindro é previamente umidificado e aquecido num recipiente mantido em banho-maria a 37°C. O sistema de saída em selo d'água serve, pela emissão de bolhas, para controlar o fluxo gasoso.

FIGURA 8

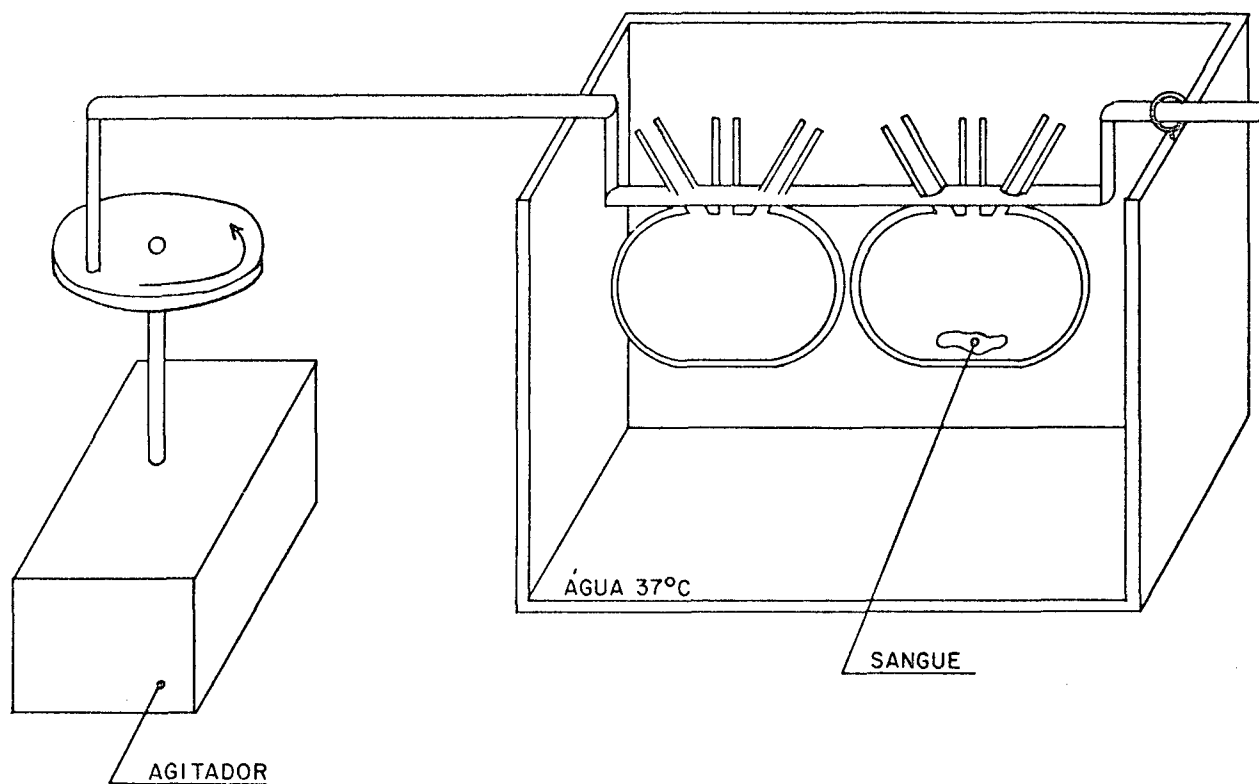


Figura 8 - Representação esquemática dos tonômetros acoplados ao agitador. O nível líquido do banho-maria permite imersão completa dos balões de vidro na altura da haste de sustentação.

## 8.2 - Procedimento

Cerca de 2,5 ml de sangue eram colocados em cada tonômetro. Após um período de tonometria de 35 a 45 minutos<sup>61</sup>, 5 amostras de sangue eram colhidas dos balões.

Foram utilizadas seringas de vidro de 1 ml modelo BD Yale Tuberculina, da BD Indústrias Cirúrgicas, preenchendo-se, com soro fisiológico, os espaços mortos das seringas.

Duas das 5 seringas eram preenchidas com 0,8 ml de sangue, sendo uma amostra, a que foi tonometrada com mistura gasosa contendo 3% de oxigênio e, outra, a que foi tonometrada com mistura contendo 4,6%. A fim de se obter amostras com conteúdos intermediários de oxigênio, as seringas restantes eram preenchidas com 0,6, 0,4 e 0,2 ml de sangue tonometrado com mistura gasosa contendo 3% de oxigênio e 0,2, 0,4 e 0,6 ml de sangue tonometrado com mistura contendo 4,6% de oxigênio respectivamente, perfazendo-se um volume total de 0,8 ml em cada seringa. Uma pequena esfera metálica de 0,2 cm de diâmetro era colocada no interior destas seringas, para facilitar as misturas dos sangues, por meio de movimentos suaves de inversão.

## 8.3 - Determinações de pH, Gases e Saturação

As determinações de pH plasmático,  $PO_2$  e  $PCO_2$  das amostras tonometradas foram realizadas no mesmo analisador de pH e gases, servindo o valor da  $PCO_2$  para controle do gás tonometrado<sup>55</sup>, devendo manter-se em  $40 \pm 2$  mm de Hg.

A leitura da saturação foi realizada em um micro-oxímetro de reflexão tipo AO Reflection Oximeter II, da American Optical Corp. (Buffalo, New York), utilizando-se o padrão ótico auxiliar do aparelho para calibração antes de cada medida <sup>07</sup>.

O tempo transcorrido da colheita ao término das determinações variou de 4 a 5 horas.

#### 8.4 - Cálculo da $P_{50(7,4)}$ e da $P_{50(iv)}$

Para a determinação da  $P_{50(7,4)}$  de cada caso, fez-se corresponder a uma CDO, os valores das amostras tonometradas, colocando-se os de  $PO_2$  na abcissa, e os de saturação na ordenada (Anexo 1).

A  $PO_2$  era previamente corrigida para um pH de 7,4 e Excesso de Base igual a zero, utilizando-se a fórmula:

$$\Delta \log PO_2 = - 0,485 \Delta pH + 0,0013 BE^{125}.$$

Das 5 amostras de sangue, era excluída uma amostra: a que menos se ajustasse à disposição de uma CDO, ou cujos valores da  $PCO_2$  não se tivessem mantido dentro dos limites estabelecidos.

A seguir, tomavam-se como "x", os valores de  $\log PO_2$ , e como "y", os de  $\log \frac{\%Sat}{100-\%Sat}$ , relativos aos quatro pontos restantes, a fim de fazê-los corresponder a uma equação da forma  $y = ax + b$ . A CDO fica assim convertida em uma reta <sup>34</sup>.

Uma linha de regressão era adaptada a estes valores de "x" e "y" pelo método dos quadrados mínimos <sup>38</sup>. O valor da

$P_{50(7,4)}$  era o antilog "x" da equação de regressão, obtido para um valor de "y" relativo a uma saturação de 50%.

O valor da  $P_{50(iv)}$ , expresso para os valores de pH plasmático e Excesso de Base medidos na veia umbilical, era calculado a partir da  $P_{50(7,4)}$ , mediante a mesma fórmula:

$$\Delta \log PO_2 = - 0,485 \Delta \text{pH} + 0,0013 \text{ BE.}$$

## 9. TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Para estudo estatístico, fizeram-se prévios testes de normalidade dos dados referentes às variáveis consideradas contínuas, pelo teste do  $\chi^2$ .

A comparação, entre médias, foi feita utilizando-se o teste "t" de Student para amostras independentes.

A associação entre os parâmetros foi testada pela análise de correlação; realizou-se, quando desejado, estudo de regressão linear pelo método dos quadrados mínimos.

O nível de significância aceito foi de até 5%.

R E S U L T A D O S

## RESULTADOS

Os valores expressos na Tabela 1 mostram as médias das  $P_{50(7,4)}$  e  $P_{50(iv)}$  dos grupos controle, sofrimento fetal agudo (SFA) e pré-termo:

TABELA 1 - Valores médios das  $P_{50(7,4)}$  e  $P_{50(iv)}$  em mm de Hg e respectivos erros padrão, do grupo controle e dos grupos SFA e pré-termo, comparados ao grupo controle.

	n	$P_{50(7,4)}$	$P_{50(iv)}$
Controles	17	19,82 ±0,31	21,82 ±0,55
SFA	16	18,85** ±0,21	23,54* ±0,51
Pré-termo	15	17,85** ±0,26	19,06** ±0,35

\*  $0,01 < p < 0,05$

\*\*  $p < 0,01$

Os níveis da  $P_{50(7,4)}$  foram menores nos recém-nascidos com SFA e pré-termo, quando comparados aos controles. Os níveis de  $P_{50(iv)}$  dos recém-nascidos pré-termo foram menores do que os do

grupo controle. Já nos recém-nascidos com SFA, registraram-se maiores níveis de  $P_{50(iv)}$ , comparados ao grupo controle, sendo estas diferenças estatisticamente significativas.

Os resultados expressos na Tabela 2, mostram os valores de 2,3-DPG e suas "Fração Funcionante" e "Fração Efetiva", dos grupos estudados e os resultados da comparação entre os grupos SFA e pré-termo com o grupo controle.

TABELA 2 - Valores médios de 2,3-DPG, "Fração Funcionante de 2,3-DPG" e "Fração Efetiva de 2,3-DPG" ( $\mu\text{moles/ml}$  de hemácias) e respectivos erros padrão, do grupo controle e dos grupos pré-termo e SFA, comparados ao grupo controle.

	n	2,3-DPG	Fração Funcionante	Fração Efetiva
Controles	17	4,90 $\pm 0,10$	1,77 $\pm 0,10$	3,02 $\pm 0,09$
SFA	16	4,27** $\pm 0,16$	1,42**+ $\pm 0,05$	2,53**+ $\pm 0,08$
Pré-termo	15	4,92 ns $\pm 0,19$	1,32 ** $\pm 0,14$	2,76 ns $\pm 0,14$

\*\* p < 0,01

+ n = 15

ns: não significativo

No grupo de recém-nascidos com SFA, os valores de 2,3-DPG, assim como das "Fração Funcionante" e "Fração Efetiva", foram me

nores quando comparados ao grupo controle. No grupo pre-termo, tanto os níveis de 2,3-DPG, como os da "Fração Efetiva", não diferiram dos do grupo controle. Ao contrário, os valores de "Fração Funcionante" foram menores neste grupo, sendo estas diferenças estatisticamente significativas.

A Tabela 3 mostra a comparação dos níveis de Hemoglobina Fetal nos três grupos estudados.

TABELA 3 - Valores médios e erros padrão de Hemoglobina Fetal(%) do grupo controle, e dos grupos pré-termo e SFA comparados aos controles.

	n	Hemoglobina Fetal
Controles	17	64,13 ±1,42
SFA	15	65,67 ns ±1,51
Pré-termo	15	73,40** ±2,28

\*\* p < 0,01

ns: não significativo

Os níveis de Hemoglobina Fetal foram maiores apenas no grupo pré-termo, quando comparados aos controles, sendo esta diferença estatisticamente significativa.

Os valores de Hematócrito e Hemoglobina, conforme expressos na Tabela 4, não mostraram diferença entre os grupos SFA e pré-termo, quando comparados com os do grupo controle.

TABELA 4 - Valores médios e erros padrão de Hematócrito (%) e Hemoglobina (g/dl) do grupo controle e dos grupos pré-termo e SFA comparados aos controles.

	n	Hematócrito	Hemoglobina
Controles	17	51,06 ±1,21	15,51 ±1,52
SFA	16	52,12 ns ±1,35	15,65 ns ±2,03
Pré-termo	15	50,26 ns ±0,96	16,13 ns ±0,34

ns: não significativo

Os resultados das gasometrias dos três grupos estudados, e da comparação dos grupos SFA e pré-termo com os controles, estão expressos na Tabela 5.

Os valores de pH plasmático,  $PO_2$ , Excesso de Base e Bicarbonato Real, foram menores no grupo SFA em relação aos controles, e os valores de  $PCO_2$ , mais elevados, sendo estas diferenças estatisticamente significativas. O grupo pré-termo, não mostrou diferença quanto aos valores dos mesmos parâmetros, quando comparados aos controles.

TABELA 5 - Valores médios e erros padrão de pH plasmático (unidades de pH),  $PCO_2$  e  $PO_2$  (mm de Hg), Excesso de Base (BE) e Bicarbonato Real (mEq/l), do grupo controle e dos grupos SFA e pré-termo comparados aos controles.

	n	pH	$PCO_2$	$PO_2$	BE	Bicarbonato Real
Controles	17	7,30 $\pm 0,02$	39,14 $\pm 1,48$	22,92 $\pm 1,58$	-6,88 $\pm 0,92$	18,87 $\pm 0,79$
SFA	16	7,17** $\pm 0,20$	48,42** $\pm 2,05$	17,01** $\pm 1,46$	-11,78** $\pm 1,02$	17,02* $\pm 0,74$
Pré-termo	15	7,32 ns $\pm 0,01$	36,01 ns $\pm 1,08$	23,41 ns $\pm 1,90$	-6,70 ns $\pm 0,58$	18,30 ns $\pm 0,44$

\*  $0,01 < p < 0,05$

\*\*  $p < 0,01$

ns: não significativo

Os valores médios de pH intra-eritrocitário ( $pH_{ie}$ ) estão expressos na Tabela 6, assim como as médias das diferenças entre os valores de pH do plasma e  $pH_{ie}$ .

Tanto os valores de  $pH_{ie}$ , como a diferença  $pH - pH_{ie}$ , do grupo pré-termo, não mostraram diferença com o grupo controle. Já nos recém-nascidos com SFA, os valores de  $pH_{ie}$  foram menores em relação aos controles, assim como a diferença entre os valores de pH do plasma e intra-celular, sendo estas diferenças estatisticamente significativas.

TABELA 6 - Valores médios e erros padrão de  $\text{pH}_{ie}$  e da diferença entre os valores de pH plasmático e  $\text{pH}_{ie}$  em unidades de pH, do grupo controle e dos grupos SFA e pré-termo, comparados aos controles.

	n	$\text{pH}_{ie}$	$\text{pH} - \text{pH}_{ie}$
Controles	17	7,05 $\pm 0,02$	0,25 $\pm 0,01$
SFA	16	6,99* $\pm 0,02$	0,18** $\pm 0,01$
Pré-termo	15	7,06 ns $\pm 0,01$	0,26 ns $\pm 0,01$

\*  $0,01 < p < 0,05$

\*\*  $p < 0,01$

ns: não significativo

Os resultados das análises de correlação, estão expressos nas Tabelas 7 a 11. Foram feitas análises entre os vários parâmetros entre si, além daquelas propostas nos Objetivos, sendo apresentadas apenas as mais importantes, ou que resultaram significativas.

Na Tabela 7 estão expressos os coeficientes de correlação entre os valores de  $P_{50(7,4)}$  e os valores de 2,3-DPG, Hemoglobina Fetal, "Fração Funcionante" e "Fração Efetiva" de 2,3-DPG nos três grupos estudados. Os valores de  $P_{50(7,4)}$  mostraram corre -

lação significativa com os valores de Hemoglobina Fetal, "Fração Funcionante" e "Fração Efetiva de 2,3-DPG", e não se correlacionaram com os valores de 2,3-DPG.

TABELA 7 - Coeficientes de correlação entre os valores de  $P_{50(7,4)}$  e os valores de 2,3-DPG, Hemoglobina Fetal, "Fração Funcionante" e "Fração Efetiva de 2,3-DPG", nos grupos controle, SFA e pré-termo conjuntamente.

	2,3-DPG <sup>+</sup>	Hemoglobina Fetal <sup>§</sup>	Fração Funcionante <sup>§</sup>	Fração Efetiva <sup>§</sup>
$P_{50(7,4)}$	0,12	-0,52**	0,54**	0,40**

+ n = 48

§ n = 47

\*\* p < 0,01

Os coeficientes de correlação entre os valores de 2,3-DPG e  $P_{50(7,4)}$  e os valores de pH plasmático,  $PCO_2$ , Excesso de Base,  $pH_{ie}$ , e  $PO_2$ , se encontram na Tabela 8, para os grupos controle e SFA.

TABELA 8 - Coeficientes de correlação entre os valores de 2,3-DPG e  $P_{50(7,4)}$  e os valores de pH plasmático,  $PCO_2$ , Excesso de Base,  $pH_{ie}$ , e  $PO_2$ , nos grupos a termo, controle e sofrimento fetal agudo.

	pH	$PCO_2$	$PO_2$	BE	$pH_{ie}$
2,3-DPG	0,57**	-0,42*	0,24	0,49**	0,44**
$P_{50(7,4)}$	0,24	-0,19	0,39*	0,21	0,02

n = 33

\* 0,01 < p < 0,05

\*\* p < 0,01

Os valores de 2,3-DPG correlacionaram-se significativamente com os valores do pH plasmático,  $PCO_2$ , Excesso de Base e  $pH_{ie}$ , não mostrando relação com os valores de  $PO_2$ . Os de  $P_{50(7,4)}$ , por sua vez, se correlacionaram significativamente com os valores de  $PO_2$  apenas.

Na Tabela 9, estão expressos os coeficientes de correlação entre os valores de pH do plasma e  $pH_{ie}$  entre si e entre estes e os valores de  $PCO_2$ ,  $PO_2$ , Excesso de Base e  $(pH - pH_{ie})$ .

TABELA 9 - Coeficientes de correlação dos valores de pH plasmático com os de  $pH_{ie}$ ; e dos valores de pH plasmático e  $pH_{ie}$  com os valores de  $PCO_2$ ,  $PO_2$ , Excesso de Base (BE) e  $(pH - pH_{ie})$ , nos grupos controle, pré-termo e SFA.

	$pH_{ie}$	$PCO_2$	$PO_2$	BE	$pH - pH_{ie}$
pH	0,80**	-0,79**	0,36*	-0,89**	0,50*
$pH_{ie}$		-0,59**	0,10	-0,77**	-0,11

n = 49

\*  $0,01 < p < 0,05$

\*\*  $p < 0,01$

Os valores de pH do plasma se correlacionaram com os valores de  $pH_{ie}$ ,  $PCO_2$ ,  $PO_2$ , Excesso de Base e com a diferença entre o pH plasmático e o  $pH_{ie}$ . Os valores de  $pH_{ie}$  mostraram correlação com os valores de  $PCO_2$  e com os de Excesso de Base.

Na Figura 9, estão representados os valores de pH plasmático e  $pH_{ie}$ , com a correspondente equação de regressão, dos três grupos estudados.

FIGURA 9

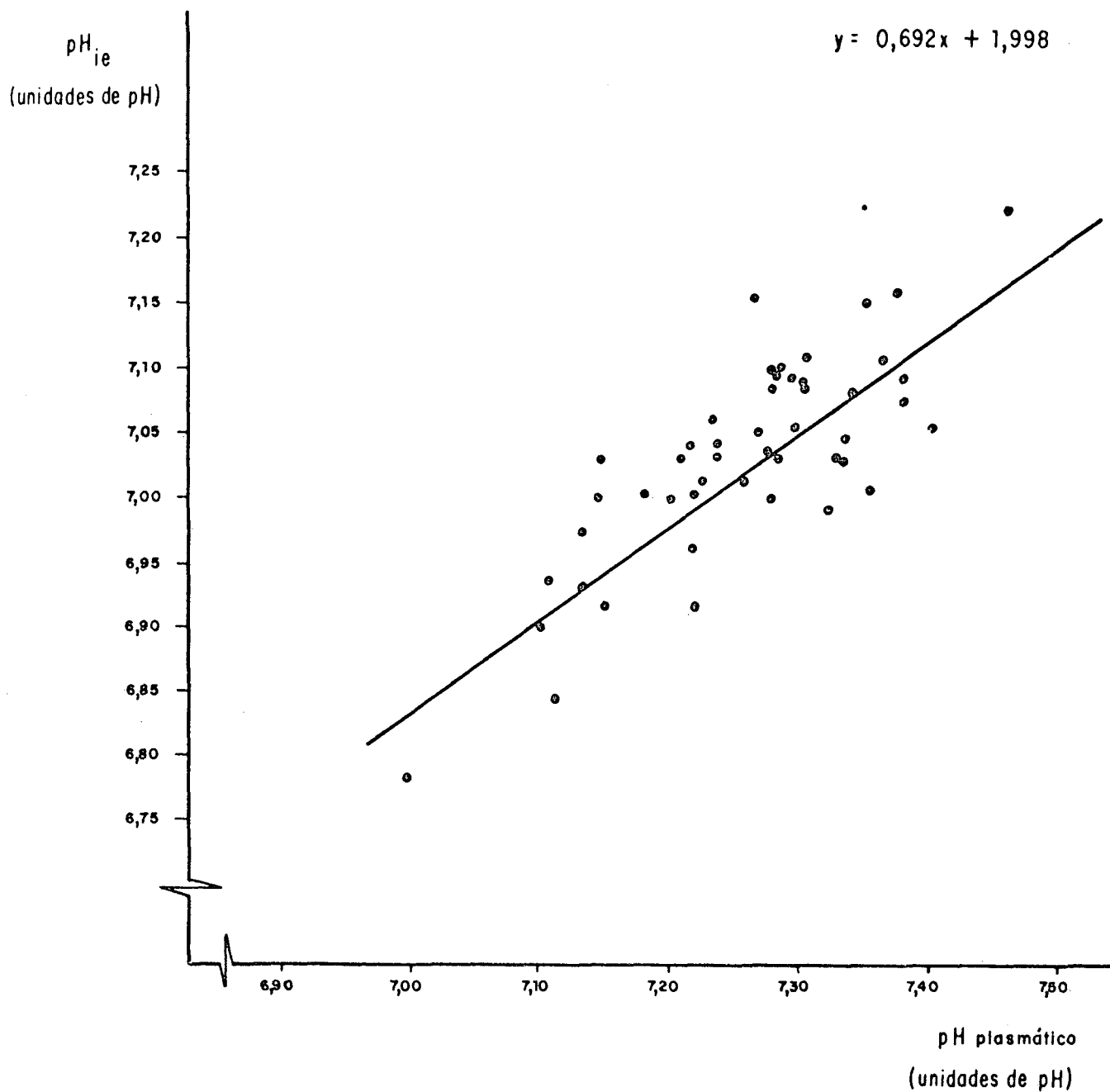


FIGURA 9 - Valores de pH intra-eritrocitário (pH<sub>ie</sub>) em relação ao pH plasmático, nos grupos controle, pré-termo e SFA. A linha cheia representa a reta de regressão.

TABELA 10 - Coeficientes de correlação entre os valores do Escore de Apgar no primeiro e no quinto minutos, e os valores de pH plasmático,  $PCO_2$ ,  $PO_2$ , Excesso de Base(BE), 2,3-DPG e  $P_{50(7,4)}$  nos grupos a termo (controle e SFA).

	Apgar 1º min	Apgar 5º min
pH	0,54**	0,48**
$PCO_2$	-0,36*	0,24
$PO_2$	0,36*	0,20
BE	0,52**	0,52**
2,3-DPG	0,52**	0,64**
$P_{50(7,4)}$	0,31	0,13

n = 33

\*  $0,01 < p < 0,05$

\*\*  $p < 0,05$

$p < 0,01$

Os valores do Escore de Apgar no primeiro minuto, mostram correlação com os valores de pH plasmático,  $PCO_2$ ,  $PO_2$ , Excesso de Base e 2,3-DPG. Os valores do Escore de Apgar no quinto minuto, mostraram correlação com os de pH plasmático, Excesso de Base e 2,3-DPG apenas. Tanto no primeiro como no quinto minuto, não foi encontrada correlação entre o Escore de Apgar e os valores de  $P_{50(7,4)}$ .

Na Tabela 11 se encontram os resultados das análises de correlação das idades gestacionais, com os valores de 2,3-DPG, He

hemoglobina Fetal e  $P_{50(7,4)}$  nos grupos controle e pré-termo. Não foi encontrada correlação entre 2,3-DPG e idade gestacional. Já os valores de Hemoglobina Fetal e  $P_{50(7,4)}$  mostraram correlação significativa com o tempo de gestação.

TABELA 11 - Coeficientes de correlação entre a idade gestacional em dias e os valores de 2,3-DPG, Hemoglobina Fetal e  $P_{50(7,4)}$ , nos grupos controle e pré-termo.

	2,3-DPG	Hemoglobina Fetal	$P_{50(7,4)}$
Idade Gestacional	- 0,001	- 0,57**	0,70**

n = 32

\*\* p. < 0,01

Na Figura 10 se encontram expressos os valores de idade gestacional e  $P_{50(7,4)}$ , com a correspondente equação de regressão, nos grupos controle e pré-termo.

FIGURA 10

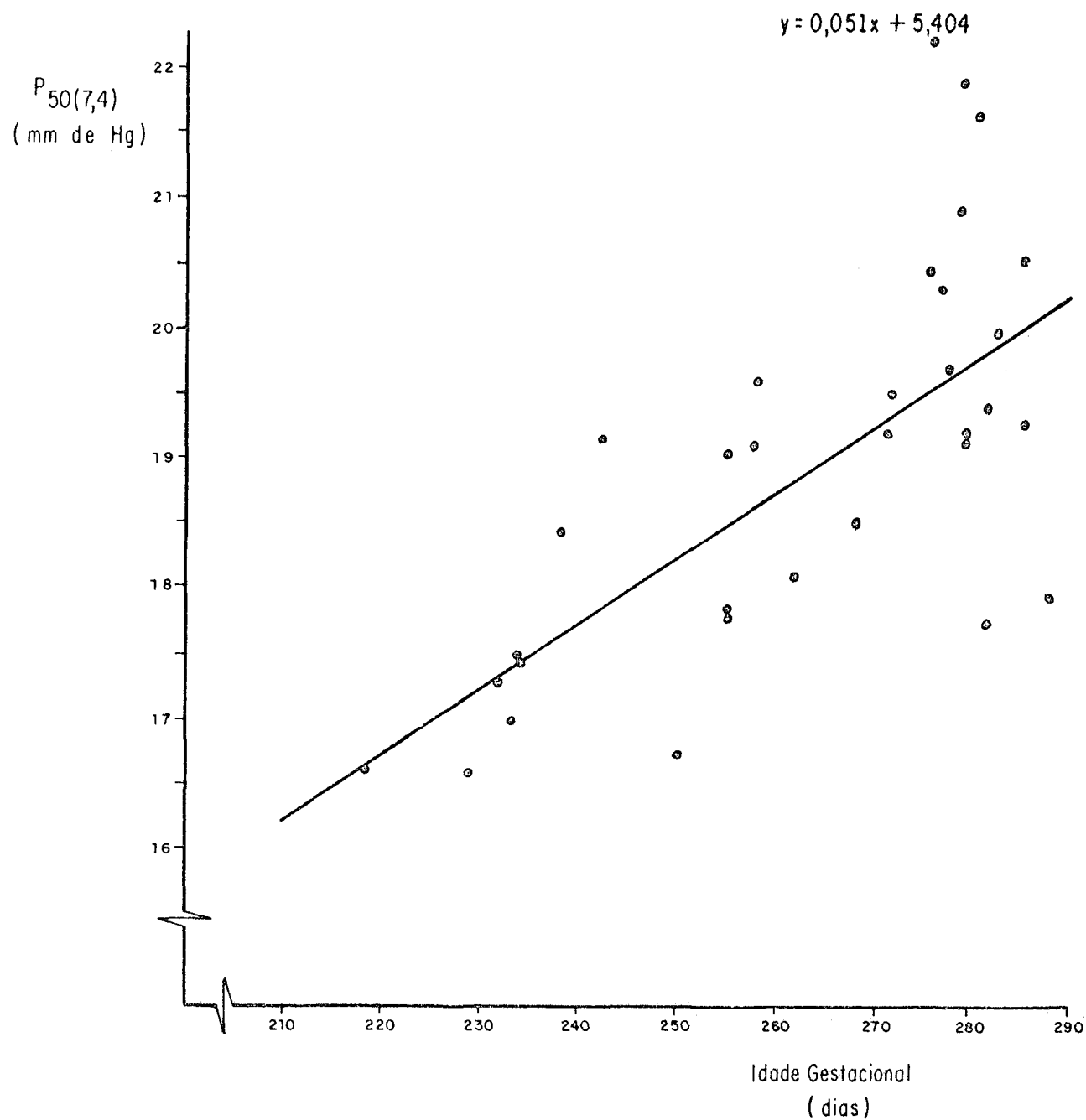


FIGURA 10 - Valores de  $P_{50(7,4)}$  em relação à Idade Gestacional, nos grupos controle e pré-termo. A linha cheia representa a reta de regressão.

D I S C U S S Ã O

## DISCUSSÃO

O fornecimento de oxigênio ao feto é uma das funções mais importantes, desempenhadas pelo organismo materno durante toda a gestação. A privação substancial de oxigênio, constitui uma das principais causas de mortalidade perinatal, sobretudo nas primeiras 24 horas de vida. Várias condições adversas, prē-natais e intra-parto, maternas e obstétricas, predis põem o feto à hipoxia <sup>50</sup>.

A diminuição do fornecimento de oxigênio é seguida, inicialmente, de uma acidose respiratória decorrente do acúmulo de CO<sub>2</sub>. Com o aumento da produção de ácidos fixos, decorrentes do metabolismo anaeróbio, surge uma acidose combinada, metabólica e respiratória <sup>02,56,139</sup>.

Estudos realizados durante o parto, utilizando-se sangue dos vasos do cordão umbilical, mostraram que, durante o trabalho e expulsão do concepto, é relativamente freqüente ocorrer uma diminuição no suprimento de oxigênio ao feto <sup>02,49,69,76</sup>, mesmo em casos clinicamente normais <sup>117</sup>, resultante da redução do fluxo sanguíneo uterino durante as contrações <sup>49</sup>. Isso se faz com uma diminuição progressiva do pH, devido ao aumento da PCO<sub>2</sub> e redução do Excesso de Base (acidose mista), que se acentuam no momento do parto <sup>69,96,97</sup>.

Os nossos valores de gasometria do sangue colhido da veia umbilical, mostram uma discreta acidose metabólica, tanto no grupo controle a termo, como no grupo pré-termo. Os recém-nascidos deprimidos, apresentam uma acidose mista, com predomínio do componente metabólico (Tabela 5).

Os valores de pH plasmático e Excesso de Base (BE) dos nossos casos equivalem à média de diversos autores, apresentada por Gulin, e aos resultados deste autor<sup>69</sup>, porém nossos resultados de  $PCO_2$  são inferiores. Da mesma forma, os nossos coeficientes de correlação entre pH plasmático e  $PCO_2$  e o Escore de Apgar (Tabela 10) são inferiores àqueles citados na literatura<sup>47,69</sup>.

Embora exista significativa correlação dos valores de pH plasmático,  $PCO_2$  e BE medidos na artéria umbilical com os respectivos valores medidos na veia umbilical, os obtidos na artéria umbilical representam melhor o sangue que supre os tecidos da criança no momento do parto, enquanto o sangue da veia umbilical está mais relacionado com as trocas placentárias no momento e imediatamente antes da expulsão do feto<sup>76</sup>.

James e colaboradores<sup>76</sup> recomendam que a colheita do sangue de cordão, para a determinação de pH e gases, seja feita em um segmento do mesmo, clampeado em suas extremidades logo após a expulsão do concepto e antes que inicie a sua respiração. A grande difusibilidade do  $CO_2$ , causando uma ampla variação dos seus níveis entre as contrações uterinas<sup>48</sup>, bem como um maior tempo de laqueadura, obedecido em nossos casos, poderiam ser os responsáveis pelos níveis menores de  $PCO_2$  nos três grupos.

A presença de circular-de-cordão pode ter prejudicado a correlação entre os valores de gasometria e do Escore de Apgar, por determinar uma resistência ao fluxo de retorno para o feto 39,47. Essas mesmas correlações também podem ter sido prejudicadas pela inclusão, nos grupos controle e pré-termo, de crianças que nasceram com ajuda de fórceps. O uso de fórceps, por si só, pode ser responsável por diminuição do pH e do BE, já que a aplicação de uma pressão sobre a cabeça fetal, pode provocar bradycardia 47.

Segundo James e colaboradores<sup>76</sup> e Vedra<sup>140</sup>, as amostras obtidas do sangue do cordão, seja de parto vaginal ou cesáreo, provavelmente não representam as condições do feto antes do trabalho de parto. Também a composição do sangue de cordão não reflete o grau de asfixia fetal durante o trabalho de parto ou durante a expulsão do concepto 49. Nos primeiros minutos após o nascimento, os recém-nascidos apresentam uma queda no pH plasmático, mais acentuada nos deprimidos, presumivelmente devida a um influxo retardado de hidrogênio a partir dos tecidos.

Embora todas essas causas de variabilidade possam ter influenciado nos índices de correlação, os resultados de comparação entre recém-nascidos vigorosos e deprimidos concordam com os da literatura. Recém-nascidos deprimidos apresentam acidose respiratória e metabólica mais acentuada que os recém-nascidos vigorosos, tanto no sangue capilar fetal como no sangue dos vasos do cordão 47,50,69,76,97,117,149.

Recém-nascidos, moderadamente deprimidos (Apgar 4 a 6 no primeiro minuto), mostram, no sangue capilar e nos vasos do cor

dão, acidose predominantemente respiratória, estando o componente metabólico normal ou discretamente afetado; e recém-nascidos, gravemente deprimidos (Apgar 0 a 3 no primeiro minuto), mostram acidose de nítido predomínio metabólico <sup>69</sup>.

Enquanto os índices de correlação de pH plasmático e  $PCO_2$  com o Escore de Apgar, são menores no quinto minuto, o BE apresenta índices semelhantes tanto no primeiro como no quinto minutos (Tabela 10). Esses achados são semelhantes aos obtidos por Gulin<sup>69</sup> e James e colaboradores<sup>76</sup> e, poderiam indicar o período de duração da asfixia.

Da mesma forma, os valores de 2,3-DPG, por refletirem possivelmente alterações mais prolongadas do equilíbrio ácido-básico 12,19,59,64,85,135, mostram índices de correlação melhores com o Escore de Apgar de cinco minutos.

Analisando os valores de  $PO_2$  dos vasos do cordão, Gulin não encontrou diferença entre recém-nascidos vigorosos e deprimidos, nem correlação com os valores do Escore de Apgar, tanto do primeiro como do quinto minutos<sup>69</sup>. Os nossos achados mostram, apesar de ampla variação, uma diminuição significativa da  $PO_2$  no grupo de recém-nascidos com sofrimento fetal agudo, como consequência do insulto hipóxico. Não se pode afastar, contudo, a influência de circulares-de-cordão apertadas, que também podem provocar diminuição dos valores de  $PO_2$  e saturação de hemoglobina na veia umbilical <sup>39</sup>.

Os nossos valores de pH intra-eritrocitário ( $pH_{ie}$ ) mostraram correspondência com os valores de pH plasmático, mantendo-se

sempre os valores intracelulares abaixo dos plasmáticos ( Tabelas 6 e 9, Figura 9).

Vários estudos têm mostrado a íntima relação da concentração hidrogeniônica nos dois compartimentos <sup>15,16,52,66,75,80</sup>, sendo que em seres humanos um pH plasmático de 7,4, corresponde a um  $pH_{ie}$  0,2 unidades mais ácido <sup>75</sup>, independentemente de se tratar de sangue adulto ou fetal <sup>16</sup>.

Várias técnicas utilizadas para a determinação do  $pH_{ie}$  têm sido citadas: hemólise com saponina ou por congelação, medindo-se diretamente em eletrodo de vidro; medidas indiretas pela distribuição de  $CO_2$ , cloreto ou DMO marcada (<sup>14</sup>C-5, 5-dimetil-2,3-oxazolidinediona) <sup>52,142</sup>. Os resultados encontrados foram semelhantes, independentemente da técnica utilizada <sup>15</sup>, ou de ter sido, o distúrbio, de origem respiratória ou metabólica <sup>66,80</sup>.

Os nossos valores, obtidos na dosagem do  $pH_{ie}$  dos grupos pré-termo e controle (Tabela 6), foram semelhantes aos relatados na literatura <sup>14,15</sup>. A comparação entre os valores dos grupos pré-termo e controle, mostra médias semelhantes, o que condiz com a ausência de correlação entre o  $pH_{ie}$  e a idade gestacional já descrita <sup>14</sup>.

Do mesmo modo, os valores mais baixos, obtidos naqueles recém-nascidos com acidose decorrente de sofrimento fetal, foram semelhantes aos obtidos em adultos com acidose <sup>16,52,66,80</sup> e de sangue fetal com acidose provocada "in vitro" <sup>75</sup>.

Tais resultados sugerem que os íons  $H^+$  se difundem livremente entre o plasma e as hemácias, como seria esperado num sis

tema que obedece ao Equilíbrio de Donnan<sup>66,80</sup>. Se um ânion não-difusível (ânion protéico) estiver presente de um lado de uma membrana permeável a outras espécies iônicas, os íons difusíveis se distribuirão de maneira desigual dos dois lados da membrana<sup>115</sup>. A concentração de um cátion difusível (hidrogênio), será maior no lado que contenha o ânion não-difusível e a concentração de um ânion difusível será menor<sup>72</sup>. Desse modo, o lado que contiver mais proteína será mais ácido que o lado que não a contiver<sup>115</sup>.

Embora exista uma íntima relação entre os valores intra e extracelulares de pH, nossos resultados mostram que a diferença entre o pH extra e o intra-eritrocitário, diminui significativamente no grupo com sofrimento fetal agudo (Tabela 6). Esses dados são comparáveis aos de Kaufmann e colaboradores<sup>80</sup>, que mostram que a diferença entre a concentração hidrogeniônica no plasma e na hemácia diminui, de maneira significativa, em pacientes com acidose metabólica ou respiratória, e, ao contrário, aumenta significativamente nos casos com alcalose metabólica ou respiratória.

Esses resultados também estão de acordo com o conceito de Equilíbrio de Donnan. Do lado alcalino de seu ponto iso-elétrico (pH maiores que 6,6), a oxi-hemoglobina se comporta como ânion. Nessas condições, a relação R entre as concentrações hidrogeniônicas dentro e fora do eritrócito  $\frac{H^+ \text{ extra}}{H^+ \text{ intra}} = R$ , mantém-se menor que 1, por ser o fluxo de hidrogênio no sentido do compartimento onde está o ânion não-difusível. Quando diminui o pH plasmático, a relação R mantém-se constante e a diminuição do pH<sub>ie</sub> ocorre em menor intensidade, diminuindo, conseqüentemente, a diferença entre os valores de pH plasmático e intra-eritrocitário<sup>80</sup>.

Os níveis de 2,3-DPG do grupo controle, (Tabela 2), mostram valores semelhantes aos descritos na literatura, dosados no sangue do cordão <sup>14,98,144</sup> ou logo após o nascimento <sup>51</sup>.

Em nossos recém-nascidos pré-termo foram encontrados níveis de 2,3-DPG mais elevados que os inicialmente descritos na literatura <sup>51,102</sup>, embora não exista relato das condições de nascimento dessas crianças. Estudando recém-nascidos pré-termo que nasceram de partos não complicados, Bard & Teasdale <sup>14</sup> citam resultados semelhantes aos nossos.

Estudando uma amostra de recém-nascidos deprimidos, de peso adequado, onde inclui casos com sedação materna excessiva; Fiori & Scanlon <sup>64</sup> não encontraram diferença nos níveis de 2,3-DPG e nos valores de pH, dosados logo após o nascimento, quando os compararam com os de recém-nascidos vigorosos.

Os nossos resultados de 2,3-DPG, mostraram, nos recém-nascidos com acidose por SFA, uma diminuição dos níveis de 2,3-DPG e de  $PO_2$  sem correlação entre esses valores (Tabelas 2,5 e 8), enquanto que houve, embora fraca, correlação dos valores de 2,3-DPG com os de pH, tanto plasmático como intra-eritrocitário.

Estudos clínicos iniciais, realizados em indivíduos submetidos exclusivamente a hipóxia <sup>60,85,108,122</sup>, mostraram, paralelamente à diminuição do  $PO_2$ , um aumento dos níveis de 2,3-DPG. Para explicar essa elevação baseou-se no estímulo à síntese de 2,3-DPG, pela maior quantidade de deoxi-hemoglobina presente.

Para se explicar a ausência de correlação entre  $PO_2$  e 2,3-DPG em recém-nascidos pré-termo com "Doença da Membrana Hialina" <sup>64</sup>,

aventou-se mecanismo semelhante. Nessa faixa etária, a presença de altos níveis de hemoglobina fetal, diminuiria a interação entre 2,3-DPG e hemoglobina deoxigenada. A persistência de 2,3-DPG livre, inibiria a enzima responsável pela sua síntese (mutase do 2,3-DPG).

Aquele mecanismo não explica, todavia, o baixo nível de 2,3-DPG em condições de acidose metabólica sem hipóxia<sup>12,19,54,55,59,68,85,100</sup>, nem tampouco situações semelhantes às do SFA, onde se instala acidose decorrente da própria hipóxia<sup>51,64,90,98,147</sup>.

O equilíbrio de cargas através da membrana da hemácia, de acordo com o Equilíbrio de Donnan, não apenas influencia o pH hemático em condições de acidose metabólica ou respiratória, mas também está relacionado a maior alcalinidade relativa da hemácia deoxigenada na hipoxemia<sup>59,92,141</sup>. A deoxigenação, sem alteração do pH plasmático, aumenta dentro do eritrócito de 0,05<sup>119</sup> a 0,1<sup>12</sup> unidades de pH. O pH eritrocitário depende tanto do estado de oxigenação da hemoglobina como do pH plasmático<sup>141</sup>.

As alterações provocadas no pH intra-eritrocitário seriam as responsáveis pelas alterações dos níveis de 2,3-DPG, decorrentes, tanto da hipóxia<sup>59,91,119,141</sup>, como da acidose<sup>12,14</sup>.

"In vivo", a diferença de ligação do 2,3-DPG com as hemoglobinas fetal e de adulto, não influencia mensuravelmente a sua concentração<sup>141</sup>. Desse modo as respostas enzimáticas, responsáveis por tais alterações, seriam decorrentes da acidose.

O aumento da concentração hidrogeniônica diminui os níveis de 2,3-DPG por ação primária a nível da enzima quinase da frutose-6-fosfato, reduzindo a glicólise. A acidose tem também um efeito a nível da enzima mutase do 2,3-difosfoglicerato, alterando o equilíbrio entre 1,3-DPG e 2,3-DPG <sup>78</sup> (Figura 5). Os resultados obtidos em nossos casos poderiam ser explicados por esses mecanismos.

Estudos da cinética da enzima mutase do 2,3-DPG sugere que somente com uma acentuada redução de 2,3-DPG, seja por degradação, seja por ligação a hemoglobina, poderia resultar em uma importante liberação de sua inibição <sup>59</sup>.

A literatura tem mostrado índices de correlação entre os valores de pH (extra e intracelular) e os valores de 2,3-DPG, melhores do que os por nós obtidos <sup>04,12,54</sup>. Os tempos diferentes em que se processam as alterações de pH e 2,3-DPG poderiam ser, em parte, responsáveis por essa diferença. A melhor correlação com o pH medido no plasma (Tabela 8), seria, possivelmente, devido a fatores técnicos, inerentes a leitura do  $pH_{ie}$  no eletrodo capilar de vidro.

Modificações do pH por alteração de seu componente respiratório, podem expressar retenção de  $CO_2$  de curta duração. Da mesma forma, o equilíbrio entre o pH extra e o intracelular se processa rapidamente, detectado já com um minuto após a indução da acidose respiratória em voluntários <sup>80</sup>. Em nossa amostra, os valores de pH plasmático e  $pH_{ie}$  correlacionam-se tanto com os va

lores de BE como com os de  $PCO_2$ , denotando uma influência mista, tanto metabólica como respiratória (Tabela 8).

As mudanças dos níveis de 2,3-DPG, por sua vez, processam-se mais lentamente, detectadas de 4 a 6 horas após a alteração do equilíbrio ácido-básico ou início do estímulo hipóxico<sup>12,19,59,64,85,135</sup>.

Em nossa amostra, não houve variação dos valores de hematócrito e hemoglobina entre os grupos. Sabe-se que a anemia eleva os níveis de 2,3-DPG em adultos<sup>135</sup> e em recém-nascidos<sup>90,103</sup>. Como os nossos valores de hemoglobina se assemelham aos valores normais para sangue do cordão<sup>103</sup>, pode-se supor que esses parâmetros não tenham influenciado nossos resultados.

A influência do 2,3-DPG na curva de dissociação da oxihemoglobina (CDO) tem sido enfatizada, tanto em sangue de adulto<sup>21,22,39,63,78,88,132,134</sup>, como em sangue fetal<sup>14,17,51,91,102,107</sup>. No recém-nascido, a posição da CDO é influenciada, também, pela proporção relativa de hemoglobina adulta e fetal, presentes<sup>104</sup>.

A hemoglobina fetal, devido às diferenças nos sítios de ligação do 2,3-DPG, apresenta interação com este fosfato orgânico menor que a hemoglobina A, do que resulta uma afinidade aumentada pelo oxigênio<sup>14,19,46,53,84,87,137,143</sup>.

Os resultados de  $P_{50(7,4)}$ , em nossos casos, também evidenciaram uma afinidade aumentada do sangue fetal pelo oxigênio, embora as médias de  $P_{50(7,4)}$  sejam inferiores às aquelas relatadas pa

ra crianças a termo <sup>14,17</sup> e pré-termo <sup>51</sup>.

Essa diferença possivelmente se deve aos métodos "in vitro" utilizados, os quais apresentam problemas inerentes à tonometria e às técnicas para medida de saturação <sup>133,136</sup>. O aumento da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, pode ser decorrente da formação de meta-hemoglobina, que pode verificar-se durante a tonometria <sup>136</sup>. A medida da saturação pelo método de espectofotometria de reflexão, por nós utilizado, fornece valores mais elevados do que a realizada pelo método manométrico de Van Slyke <sup>133</sup>. Além disso, a estocagem do sangue, mesmo a 4°C, pode provocar, no período de 2 horas, diminuição na  $P_{50(7,4)}$ , embora significativamente menor que a provocada pela incubação a 37°C <sup>01</sup>.

Os níveis mais baixos de  $P_{50(7,4)}$ , em recém-nascidos com sofrimento fetal, seriam devidos à diminuição de 2,3-DPG (Tabelas 1 e 2).

Os nossos achados são semelhantes àqueles obtidos de recém-nascidos pré-termo com "Doença da Membrana Hialina" <sup>51,53,91,147</sup>. Apesar do menor efeito do 2,3-DPG sobre a hemoglobina fetal, ocorre uma significativa diminuição nos valores da  $P_{50(7,4)}$  em condições de acidose por hipóxia que cursam com baixos níveis de 2,3-DPG.

Os níveis mais baixos de  $P_{50(7,4)}$  em recém-nascidos pré-termo poderiam ser devidos aos níveis mais elevados de hemoglobina fetal neste grupo (Tabelas 1 e 3).

Vários autores têm também assinalado a correlação inversa entre a idade gestacional e os níveis de hemoglobina fetal <sup>35,44</sup>.

46,67,89 e a conseqüente correlação direta entre os valores de  $P_{50(7,4)}$  e a idade gestacional <sup>14,51,102</sup> (Tabela 11, Figura 10).

A dificuldade de se estabelecer, por vezes no sangue fetal, uma correlação precisa entre  $P_{50(7,4)}$  e hemoglobina fetal, e entre  $P_{50(7,4)}$  e 2,3-DPG, considerados isoladamente, deu origem aos conceitos de "Fração Funcionante" e "Fração Efetiva de 2,3-DPG" <sup>51,102</sup>. Por levarem em consideração a ação predominante do 2,3-DPG sobre a fração de Hb-A, e o menor efeito do 2,3-DPG sobre a hemoglobina fetal, mostraram índices de correlação melhores com os valores de  $P_{50(7,4)}$ , do que os níveis de 2,3-DPG e hemoglobina fetal.

Os nossos resultados mostraram índices de correlação entre  $P_{50(7,4)}$  e "Fração Funcionante de 2,3-DPG" e entre  $P_{50(7,4)}$  e "Fração Efetiva de 2,3-DPG" (Tabela 7), que são inferiores aos relatados na literatura <sup>51, 102</sup>. A comparação dos valores da "Fração Efetiva de 2,3-DPG", entre os grupos controle e pré-termo, não forneceu diferença significativa, como seria de se esperar para valores mais baixos de  $P_{50(7,4)}$  no grupo pré-termo; por sua vez, a mesma comparação entre o grupo controle e o grupo com SFA, e as comparações realizadas com os valores de "Fração Funcionante" entre os três grupos (Tabela 2), mostraram resultados significativos.

Tais diferenças poderiam ser devidas à técnica de determinação de hemoglobina fetal utilizada. O método de Singer e colaboradores <sup>129</sup> não é o mais acurado para a determinação de hemoglobina fetal por desnaturação alcalina <sup>44</sup>, e tende a dar resultados mais baixos quando essa hemoglobina se apresenta em níveis elevados <sup>77</sup>.

As nossas médias de hemoglobina fetal, para recém-nascidos a termo e pré-termo, se assemelham às obtidas em nosso meio por Cecatto <sup>35</sup>, que utilizou esse mesmo método, e são inferiores às obtidas por outros autores <sup>44,51,67</sup>. Essa variação poderia ser explicada pelas diferentes técnicas utilizadas.

Em nosso estudo, outros fatores, passíveis de serem determinados tecnicamente, e que poderiam influenciar nos resultados da  $P_{50(7,4)}$ , não foram avaliados: a concentração de monóxido de carbono, a concentração de meta-hemoglobina e a presença de outros tipos de hemoglobina, que possuem afinidade pelo oxigênio alterada.

Sabe-se que o monóxido de carbono pode aumentar a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio e alterar a forma da CDO <sup>86</sup>. Sua concentração no sangue fetal corresponde à do sangue materno, podendo ser até de 1,8 vezes mais elevada <sup>62,86</sup>.

Dentre os fatores responsáveis pela elevação do monóxido de carbono no sangue fetal, poder-se-ia discutir se o tabagismo materno teria influenciado os nossos resultados.

Sabe-se que mulheres fumantes apresentam níveis mais elevados de carboxi-hemoglobina no seu sangue <sup>41</sup> e no sangue do cordão de seus recém-nascidos <sup>70</sup>, do que mulheres não fumantes, havendo no primeiro caso, uma forte correlação positiva, entre o número de cigarros fumados e o nível de monóxido de carbono <sup>41</sup>.

Contudo, o nível de carboxi-hemoglobina está na dependência do intervalo de tempo transcorrido da inalação do monóxido de carbono até o momento de sua dosagem no sangue <sup>70</sup>. A curva de

captação e eliminação de CO, nos sangues materno e fetal, tem evidenciado que, 12 horas após de cessada a inalação, os níveis sanguíneos desse gás são semelhantes aos existentes antes de iniciada a exposição ao mesmo <sup>86</sup>.

Não se pode todavia, excluir a possibilidade da interferência de outras fontes de CO, como, por exemplo, o monóxido de carbono produzido endogenamente como consequência do catabolismo da hemoglobina <sup>45,62</sup>, em quantidades que podem afetar a CDO, em indivíduos não fumantes <sup>45</sup>.

O possível efeito do nível de meta-hemoglobina não foi avaliado; embora, em condições normais, apenas uma pequena percentagem de hemoglobina (1% aproximadamente) é oxidada a meta-hemoglobina <sup>10</sup>.

Variantes de hemoglobina fetal, resultantes de alteração da cadeia  $\alpha$ , têm sido descritas em sangue do cordão; e variantes resultantes de cadeia  $\gamma$  anormal são extremamente raras <sup>28</sup>. Não tem sido relatada a presença de hemoglobinas que possuam afinidade alterada pelo oxigênio, dentre as hemoglobinas anormais do sangue do cordão. Embora um número grande de variantes da hemoglobina tem sua afinidade, pelo oxigênio, alterada <sup>37,78</sup>, a grande maioria delas apresenta alteração estrutural na cadeia  $\beta$  <sup>28</sup>.

Os nossos resultados, onde a correlação entre  $P_{50(7,4)}$  e a idade gestacional, foi mais estreita do que com a "Fração Efetiva de 2,3-DPG", fazem supor que outros fatores, ainda desconhecidos, contribuam para o aumento de  $P_{50(7,4)}$  durante a gestação <sup>14,102</sup>. Não pode excluir-se o possível efeito de outros fosfatos orgânicos como o ATP, pelo efeito deste sobre a CDO <sup>21</sup>.

As medidas de  $P_{50}$  discutidas até aqui, são aquelas efetuadas a um pH padrão de 7,4, onde se refletem as mudanças de 2,3-DPG<sup>19</sup> e hemoglobina fetal. O relato da  $P_{50}$  a este pH arbitrário, tem pouco significado fisiológico<sup>04</sup>, por ser excluído o "efeito Bohr"<sup>78, 132</sup>.

Os nossos valores de  $P_{50(iv)}$ , expressos no pH do paciente (Tabela 1), mostram níveis maiores que os de  $P_{50(7,4)}$  por terem os nossos pacientes (com exceção de um caso), pH inferiores a 7,4 no sangue da veia umbilical. Essa modificação foi mais acentuada no grupo com sofrimento fetal, pois, devido a níveis mais baixos de pH, a  $P_{50(iv)}$  está significativamente mais elevada.

Desde a descoberta do efeito do 2,3-DPG na afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, tem-se dado muita ênfase às alterações dos valores de 2,3-DPG e dos valores da  $P_{50}$ , e menor atenção, à sua importância fisiológica<sup>83</sup> e ao seu significado clínico<sup>132</sup>. Discute-se a relevância das modificações na CDO e sobre o quanto de seu desvio será necessário para provocar uma resposta reconhecível no fluxo sanguíneo, na captação de oxigênio ou na função de um órgão<sup>83</sup>.

Um importante papel tem sido atribuído à diferença da afinidade pelo oxigênio, entre o sangue materno e o sangue fetal, na oxigenação transplacentária<sup>46, 92, 101, 124</sup>.

A sua alta afinidade pelo oxigênio, juntamente com concentrações aumentadas no sangue fetal, favorecem a hemoglobina fetal na captação de oxigênio e isso parece adaptado às condições fetais de transporte de oxigênio intra-útero<sup>32,87,89,143</sup>.

Papel adicional na transferência de oxigênio é a mudança no pH que ocorre nos sangues materno e fetal na circulação placentária. O sangue fetal, chegando à placenta, sofre elevação do seu pH, aumentando portanto sua afinidade pelo oxigênio e possibilitando a captação deste. O sangue materno, ao contrário, sofre uma diminuição do pH, permitindo a liberação de oxigênio <sup>87, 89</sup>.

Acredita-se que essa diferença de afinidade não seja um fator essencial na maioria das espécies, inclusive no homem <sup>89</sup>. Os valores de  $P_{50(7,4)}$  de fetos que receberam transfusão intra-uterina, foram mais elevados que os de suas mães, sem ter havido prejuízos do crescimento fetal <sup>101</sup>. Provavelmente, isso foi devido ao predomínio de hemoglobina A e ao aumento de 2,3-DPG encontrados. Esses dados, adicionados a relatos esporádicos de pacientes grávidas, com variantes de hemoglobina com afinidade aumentada, sugerem que maior afinidade do sangue do feto pelo oxigênio não é pré-requisito para a existência intra-uterina <sup>89,101</sup>.

Face a essas descrições, parece-nos difícil atribuir, isoladamente, ao aumento de  $P_{50(iv)}$  nos recém-nascidos com sofrimento fetal agudo, capacidade de prejudicar a oxigenação do feto intra-útero.

A posição da CDO em relação a determinada  $PO_2$  é um dos fatores que influenciam a liberação de oxigênio para os tecidos <sup>78, 105,134</sup>. Outros fatores relacionados ao feto, no transporte de oxigênio aos tecidos face a situações críticas, são o débito cardíaco e a concentração de hemoglobina <sup>89</sup>.

Em condições agudas, severas, constata-se uma redistribuição do fluxo cardíaco em direção aos órgãos essenciais, que são o coração, o cérebro e a placenta <sup>89</sup>.

Se antes do nascimento, a adaptação da hemoglobina fetal a captar oxigênio seria de importância na respiração transplacentária, após o nascimento, com respiração alveolar, as características de ceder oxigênio se tornam mais importantes <sup>42,92</sup>.

Contudo, o recém-nascido apresenta uma diminuição em sua capacidade de aumentar a liberação de oxigênio para os tecidos em condições de hipóxia <sup>46</sup>. A presença predominante de uma hemoglobina com afinidade aumentada e a uma capacidade limitada de aumentar seu débito cardíaco <sup>51</sup>, se acrescenta também a incapacidade do eritrócito fetal de aumentar os seus níveis de 2,3-DPG frente à hipóxia sem acidose <sup>101,109</sup>.

Embora o efeito do 2,3-DPG na hemoglobina fetal seja menor que na hemoglobina A, para uma determinada diminuição do pH plasmático, a queda no 2,3-DPG fetal é quase duas vezes aquela que ocorre no adulto <sup>147</sup>. Assim, também no sangue fetal, mudanças de afinidade do oxigênio, causadas por diminuição no nível de 2,3-DPG, com alteração prolongada do pH, aproximadamente contrabalançam as que adviriam, exclusivamente do "efeito Bohr". O pH e o 2,3-DPG têm efeitos complementares. O 2,3-DPG diminuído, contrabalança o efeito do pH na CDO, de modo que não haveria prejuízo no suprimento tissular de oxigênio <sup>04</sup>.

Modificações agudas no "efeito Bohr", por tratamento brusco da acidose, quando a velocidade de recuperação do pH excede a re

C O N C L U S Õ E S

cuperação de 2,3-DPG, podem ocasionar prejuízo na oxigenação tissular<sup>04,78,132</sup>. A diminuição da  $P_{50(iv)}$  produzida, pode atingir os valores de  $P_{50(7,4)}$ , que são significativamente mais baixos para os recém-nascidos com SFA.

Provavelmente, modificações isoladas na  $P_{50}$  não alteram em substância, o transporte de oxigênio, porém na presença de condições anormais de transporte de oxigênio, a posição da CDO tanto pode prejudicar, ainda mais, a oxigenação tissular, como ajudar a compensar o transporte alterado<sup>132</sup>. Desvios na CDO poderiam ter conseqüências nos órgãos que apresentam aumento da diferença arterio-venosa no conteúdo de oxigênio, como o cérebro e o coração<sup>83</sup>.

## CONCLUSÕES

1. Os valores de  $P_{50(7,4)}$  nos grupos de recém-nascidos a termo, com sofrimento fetal e pré-termo, são menores que os de recém-nascidos do grupo controle;
2. Os valores de  $P_{50(iv)}$  nos recém-nascidos pré-termo são menores que os do grupo controle; e os do grupo de recém-nascidos a termo, com sofrimento fetal, são maiores que os do grupo controle;
3. Os valores de 2,3-DPG e suas "Fração Funcionante" e "Fração Efetiva" nos recém-nascidos a termo, com sofrimento fetal, são menores que os do grupo controle;
4. Os valores de pH intra-eritrocitário e da diferença entre o pH do plasma e o pH intra-eritrocitário, são menores no grupo de recém-nascidos a termo, com sofrimento fetal agudo, que os obtidos no grupo controle;
5. Há correlação positiva entre os valores das "Fração Funcionante" e "Fração Efetiva do 2,3-DPG" e os valores da  $P_{50(7,4)}$ , assim como correlação negativa entre os valores de hemoglobina fetal e  $P_{50(7,4)}$ , nos recém-nascidos estudados;

6. Há correlação positiva entre os valores do pH plasmático, Excesso de Base e pH intra-eritrocitário e os valores de 2,3-DPG, bem como correlação negativa entre os valores de  $PCO_2$  e 2,3-DPG, nos recém-nascidos a termo, com sofrimento fetal e grupo controle;
7. Há correlação positiva entre os valores de 2,3-DPG e os do Escore de Apgar, obtidos, no primeiro e no quinto minuto, nos recém-nascidos a termo, com sofrimento fetal e grupo controle;
8. Há correlação positiva entre os valores da  $P_{50(7,4)}$  e da idade gestacional, nos recém-nascidos pré-termo e no grupo controle.

REFERÊNCIAS

BIBLIOGRÁFICAS

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ABERMAN, A.; CAVANILLES, J.M.; MICHAELS, S.; SHUBIN, H.; WEIL, M.H. In vitro changes in blood  $P_{50}$  and erythrocyte 2,3-diphosphoglycerate concentration. Clin. Chem., 22(7): 1073-7, 1976.
02. ADAMSONS, K. & MYERS, R.E. Perinatal asphyxia. Causes, detection and neurologic sequelae. Ped. Clin. North Am., 20(2): 465-80, 1973.
03. AGÜERO, O. Fetal hemoglobin in premature, term, and post-mature infants. Obstet. Gynecol., 19:257-60, 1962.
04. ALBERTI, K.G.M.M.; DARLEY, J.H.; EMERSON, P.M.; HOCKADAY, T. D.R. 2,3-diphosphoglycerate and tissue oxygenation in uncontrolled Diabetes Mellitus. Lancet, 2:391-5, 1972.
05. ALLEN, D.W.; WYMAN Jr, J., SMITH, C.A. The oxygen equilibrium of fetal and adult hemoglobin. J. Biol. Chem., 203:81-7, 1953.
06. AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. Committee on Fetus and Newborn. Nomenclature for duration of gestation, birth weight and intra-uterine growth. Pediatrics, 39(6):935-42, 1967.

07. AMERICAN OPTICAL CORPORATION. A 0 reflection oximeter II reference manual. Buffalo, s.d., 16 p.
08. ANSELMINO, K.T. & HOFFMAN, E. Die Ursachen des Icterus Neonatorum. Arch. Gynäk., 143:477-99, 1930.
09. APGAR, V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. Curr. Res. Anesth., 32:260-7, 1953.
10. ARNAUD, J.; GUTIERREZ, N.; VERGNES, H. Funci3n Respiratoria del gl3bulo rojo en la altura. Sangre, 22(2) :219-24, 1977.
11. ASAKURA, T.; SATO, Y.; MINAKAMI, S.; YOSHIKAWA, H. Effect of deoxygenation of intracellular hemoglobin on red cell glycolysis. J. Biochem., Tokyo, 5(59):524-7, 1966.
12. ASTRUP, P.; R3RTH, M.; THORSHAUGUE, C. Dependency on acid-base status of oxyhemoglobin dissociation and 2,3-diphosphoglycerate level in human erythrocytes. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 26:47-52, 1970.
13. BARCROFT, J. The effect of temperature on the dissociation curve of blood. J. Physiol., London, 39:374-8, 1909.
14. BARD, H. & TEASDALE, F. Red cell oxygen affinity, hemoglobin type, 2,3-diphosphoglycerate and pH as a function of fetal development. Pediatrics, 64(4):483-7, 1979.
15. BATTAGLIA, F.C.; BEHRMAN, R.E.; HELLEGERS, A.E.; BATTAGLIA, J.D. Intracellular hydrogen ion concentration changes

- during acute respiratory acidosis and alkalosis. J. Pediatr., 66(4):737-42, 1965.
16. BATTAGLIA, F.C.; HELLEGERS, A.E.; SEEDS Jr., A.E. The differences between intracellular and extracellular hydrogen ion. J. Pediatr., 66(4):743-6, 1965.
  17. BAUER, G.; LUDWIG, I.; LUDWIG, M. Different effects of 2,3-diphosphoglycerate and adenosine triphosphate on the oxygen affinity of adult and foetal human haemoglobin. Life Sci., 7:1339-43, 1968.
  18. BAUER, C. Antagonistic influence of CO<sub>2</sub> and 2,3-diphosphoglycerate on the Bohr effect of human haemoglobin. Life Sci., 8:1041-6, 1969.
  19. BELLINGHAM, A.J.; DETTER, J.C.; LENFANT, C. The role of hemoglobin affinity for oxygen and red-cell 2,3-diphosphoglycerate in the management of diabetic ketoacidosis. Trans. Assoc. Am. Physicians, 83:113-20, 1971.
  20. BENESCH, R. How do small molecules do great things? N. Engl. J. Med., 280:1179-80, 1969.
  21. BENESCH, R. & BENESCH, R.E. The effect of organic phosphates from the human erythrocyte on the allosteric properties of hemoglobin. Biochem. Biophys. Res. Commun., 26:162-7, 1967.
  22. BENESCH, R. & BENESCH, R.E. Intracellular organic phosphates as regulator of oxygen release by hemoglobin. Nature, 221:618-22, 1968.

23. BENESCH, R. & BENESCH, R.E. The reaction between diphosphoglycerate and hemoglobin. Fed.Proc., 20(3):1101-4, 1970.
24. BENESCH, R.; BENESCH, R.E.; YU, C.I. The oxygenation of hemoglobin in the presence of 2,3-diphosphoglycerate. Effect of temperature, pH, ionic strength and hemoglobin concentration. Biochemistry, 8:2567-71, 1969.
25. BJÖRK, V.O. & HILTY, H.J. Microvolumetric determinations of CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> tensions in arterial blood. J. Appl. Physiol., 6:800-8, 1954.
26. BOIANOWSKY, D.L.; VEIGA NETO, A.J.; LIEMENT, C.H.V. Relação entre hemoglobina fetal e idade gestacional. J. Pediatr., Rio de Janeiro, 36:162-5, 1971.
27. BROMBERG, Y.M.; ABRAHAMOV, A.; SALZBERGER, M. The effect of maternal anoxemia on the foetal haemoglobin of the newborn. J. Obstet. Gynaecol. Brit. Emp., 63:875-7, 1956.
28. BUNN, H.F. The structure and function of normal and abnormal human hemoglobins. In: NATHAN, D.G. & OSKI, F.A. Hematology of infancy and childhood. Philadelphia, W.B. Saunders, 1974. p.390-418.
29. BUNN, H.F. & BRIEHL, R.W. The interaction of 2,3-diphosphoglycerate with various human hemoglobins. J. Clin. Invest., 49:1088-95, 1970.
30. BURKE, M.D. Blood gas measurements. Postgrad. Med., 64(6):163-7, 1978.

31. BURSAUX, E. Affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène et tolérance à l'hypoxie. Poumon Coeur, 31(4):183-6, 1975.
32. BURSAUX, E.; POYART, C.; GUESMON, P., TEISSEIRE, B. Comparative effects of CO<sub>2</sub> on the affinity for O<sub>2</sub> of fetal and adult erythrocytes. Pflügers Arch., 378:197-203, 1979.
33. CALDWELL, P.R.B. & NAGEL, R.L. The binding of 2,3-diphosphoglycerate as a conformational probe of human hemoglobins. J. Mol. Biol., 74:605-11, 1973.
34. CANIZARO, P.C.; NELSON, J.L.; HENNESSY, J.L.; BRIGHT, P.B. A technique for estimating the position of the oxygen-hemoglobin dissociation curve. Ann. Surg., 180(3):364-7, 1974.
35. CECCATO, M.P. Avaliação da idade gestacional em recém-nascidos pela concentração de hemoglobina fetal. Curitiba, 1977. 75 p. Tese. Mestrado. Universidade Federal do Paraná.
36. CHANUTIN, A. & CURNISH, R.R. Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human erythrocytes. Arch. Biochem. Biophys., 121:96-102, 1967.
37. CHARACHE, S. Homeostatic responses to increased oxygen affinity. Adv. Exp. Med. Biol., 94:433-41, 1977.
38. CHRISTMANN, R.V. Análise de regressão e correlação linear. In: \_\_\_\_\_. Estatística aplicada. São Paulo, Edgard Blücher, 1978. p. 101-11.

39. CLEMETSON, C.A.B. The oxygen saturation of umbilical artery and vein blood at birth, with special reference to cord obstruction. Proc. Royal Soc. Med., 46(1):94-7, 1953.
40. CLINICAL implications of erythrocyte 2,3-diphosphoglycerate. Lancet, 2:414-5, 1972.
41. COLE, P.V.; HAWKINS, L.H.; ROBERTS, D. Smoking during pregnancy and its effects on the fetus. J. Obstet. Gynecol. Brit. Commomw., 79:782-7, 1972.
42. COLOMBO, B.; KIM, B.; PEREZ ATENCIO, R.; NOLINA, C.; TERRENATO, L. The pattern of fetal haemoglobin disappearance after birth. Br. J. Haematol., 32:79-87, 1976.
43. COMROE, J.H. The transport of oxygen by blood. In: Physiology of respiration. Chicago, Year Book, 1974. 2. ed. p. 183-96.
44. COOK, C.D.; BRODIE, H.R.; ALLEN, D.W. Measurement of fetal hemoglobin in newborn infants. Correlation with gestacional age and intrauterine hypoxia. Pediatrics, 20(2):272-8, 1957.
45. COOK, D.A. A pratical and theoretical appraisal of the significance of  $P_{50}$  and 2,3-diphosphoglycetate determination in the routine chemical pathology department. Med. Lab. Sci., 33(4):287-97, 1976.
46. COOPER, H.A. & HOAGLAND, H.C. Fetal hemoglobin. Mayo Clin. Proc., 47:402-14, 1972.

47. CRAWFORD, J.S. Maternal and cord blood at delivery. Vertex vaginal delivery of mature infant. Parameters of respiratory exchange. Biol. Neonate, 8:131-72, 1965.
48. \_\_\_\_\_. Maternal and cord blood at delivery. III. Parameters of respiratory exchange (Apgar score). Am. J. Obstet. Gynecol., 96(3):382-7, 1966.
49. DANIEL, S.S.; ADAMSONS Jr, K.; JAMES, S.L. Lactate and pyruvate as an index of prenatal oxygen deprivation. Pediatrics, 37(6):942-53, 1966.
50. DELASCIO, D. & EL-KADRE, E. Anoxia perinatal. São Paulo, Sarvier, 1975. 140 p.
51. DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M.; RONCEVIA, N.P.; OSKI, F.A. Postnatal changes in oxygen transport to term, premature and sick infants: the role of red cell 2,3-diphosphoglycerate and adult hemoglobin. Pediatr. Res., 5:235-45, 1971.
52. DESFORGES, J.F. & SLAWSKI, P. Red cell 2,3-diphosphoglycerate and intracellular arterial pH in acidosis and alkalosis. Blood, 40(5):740-6, 1972.
53. DE VERDIER, C.H. & GARBY, L. Low binding of 2,3-diphosphoglycerate to hemoglobin F. A contribution on the knowledge of the binding site and an explanation for the high oxygen affinity of foetal blood. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 23:149-51, 1969.
54. DITZEL, J. & STANDL, E. The oxygen transport system of red

blood cells during diabetic ketoacidosis and recovery. Diabetologia, 11:255-60, 1975.

55. DOBASHI, P.N. Contribuição ao estudo do equilíbrio ácido-básico e transporte de oxigênio, no sangue estocado em solução de ácido-citrato-dextrose (ACD). São Paulo, 1978. 44 p. Tese. Mestrado. Escola Paulista de Medicina.
56. DORAND, R.D. Neonatal asphyxia. An approach to physiology and management. Ped. Clin. North Am., 24(3):455-61, 1977.
57. DUBOWITZ, L.M.S.; DUBOWITZ, V.; GOLDBERG, C. Clinical assessment of gestacional age in the newborn infant. J. Pediatr., 77:1-10, 1970.
58. DUC, G.V. & ENGEL, K. Hemoglobin-oxygen affinity and erythrocyte 2,3-diphosphoglycerate (DPG) content in hyaline membrane disease (HMD) and cardiac malformations (CM). Pediatr. Res., 4(5):467, 1970.
59. DUHM, J. & GERLACH, E. On the mechanisms of the hypoxia-induced increase of 2,3-diphosphoglycerate in erythrocytes. Studies on rat erythrocyte in vivo and on human erythrocytes in vitro. Pflügers. Arch., 326:254-69, 1971.
60. EATON, J.W.; BREWER, G.J.; GROVER, R.F. Role of red cell 2,3-diphosphoglycerate in the adaptation of man to altitude. J. Lab. Clin. Med., 73(4):603-9, 1969.
61. EDWARDS, M.J. & MARTIN, R.J. Mixing technique for the oxygen-

- hemoglobin equilibrium and Bohr effect. J. Appl. Physiol., 21(6):1898-902, 1966.
62. FÄLLSTRÖM, S.P. On the endogenous formation of carbon monoxide in full-term newborn infants. Acta Paediatr. Scand., Suppl. 189:1-27, 1969.
63. FINCH, C.A. & LENFANT, C. Oxygen transport in man. N. Engl. J. Med., 286:407-15, 1972.
64. FIORI, R. M. 2,3-difosfoglicerato eritrocitário na "Doença da Membrana Hialina". Porto Alegre, 1976. Tese. Livredocência. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
65. FIORI, R.M. & SCANLON, J.W. Erythrocyte levels of 2,3-diphosphoglycerate in the syndrome of fetal malnutrition. Am. J. Obstet. Gynecol., 111(5)681-6, 1971.
66. FUNDER, J. & WIETH, J.O. Chloride and hydrogen ion distribution between human red cell and plasma. Acta Physiol. Scand., 68:234-45, 1966.
67. GERBIE, A.B.; DE COSTA, E.J.; REIS, R.A. Fetal hemoglobins as an index of maturity. Am. J. Obstet. Gynecol., 78:57-63, 1959.
68. GIBBY, O.M.; VEALE, K.E.A.; HAYES, T.M.; JONES, J.G.; WARDROP, C.A.J. Oxygen availability from the blood and the effect of phosphate replacement on erythrocyte 2,3-diphosphoglycerate and haemoglobin-oxygen affinity in diabetic ketoacidosis. Diabetologia, 15:381-5, 1978.

69. GULIN, L.A. O sofrimento fetal durante trabalho de parto. Curitiba, 1969. 706 p. Tese. Doutorado. Universidade Federal do Paraná.
70. HADDON Jr., W.; NESBITT, R.E.L.; GARCIA, R. Smoking and pregnancy: carbon monoxide in blood during gestation and at term. Obstet. Gynecol., 18(3):262-7, 1961.
71. HASS, L.F. & MILLER, K.B. A reassessment of the phosphoglycerate bypass enzymes in human erythrocytes. Biochem. Biophys. Res. Commun., 66(3):970-9, 1975.
72. HAYS, R.M. Dinâmica da água e eletrólitos orgânicos. In: MAXWELL, M.H. & KLEENAN, C.R. Clinica das alterações hidro-eletrolíticas. 3. ed. s.L. Mc Graw-Hill, 1980.p.1-26.
73. HELLERSTEIN, S. & BUNTHRARUNGRUJ, T. Effect of time and temperature on blood  $P_{50}$  and 2,3-diphosphoglycerate measurements. Clin. Chem., 22(1):39-41, 1976.
74. HILL, A.V. The possible effects of the aggregation of the molecules of hemoglobin on its dissociation curves. J. Physiol., London, 40(5):4-7, 1910
75. HILPERT, P.; FLEISHMANN, R.G.; KEMPE, D.; BARTELS, H. The Bohr effect related to blood and erythrocyte pH. Am. J. Physiol., 205:337-40, 1963.
76. JAMES, L.S.; WEISBROT, I.M.; PRINCE, C.E.; HOLADAY, D. A.; APGAR, V. The acid-base status of human infants in relation to birth asphyxia and the onset of respiration. J. Pediatr., 52(4):379-94, 1958.

77. JONXIS, J.H.P. & HUISMAN, T.H.J. The detection and estimation of fetal hemoglobin by means of the alkali denaturation test. Blood, 11:1009-18, 1956.
78. JUEL, R. 2,3-diphosphoglycerate: its role in health and disease. CRC Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., 10(2):113-46, 1979.
79. KAJAJIAN, Jr, H.H. Regulation of fetal hemoglobin production. Semin. Hematol., 11(4):525-48, 1974.
80. KAUFMANN, W.; KÖMFF, J.; DÜRR, F. Wasserstoffionenkonzentration von Erythrocyten im Capillarblut bei Gesunden und Kranken mit Störungen des Säure-Base-Gleichgewichtes. Z. Ges. Exp. Med., 142:57-68, 1967.
81. KILMARTIN, J.V. Interaction of haemoglobin with protons, CO<sub>2</sub> and 2,3-diphosphoglycerate. Br. Med. Bull., 32(3):209-12, 1976.
82. KIRK, B.W.; RABER, M.B.; DUKE, K.R. A simplified method for determining the P<sub>50</sub> of blood. J. Appl. Physiol., 38(6):1140-2, 1975.
83. LAVER, M.B. A fable of our time: oxygen transport, or does the emperor have new clothes? Anesthesiology, 36(2):105-6, 1972.
84. LEHMAM, H. & HUNTSMAN, R.G. An introduction to the structure and function of haemoglobin. Clin. Haematol., 3(2):217-23, 1974.

85. LENFANT, C.; TORRANCE, J.D.; WOODSON, R.D.; JACOB, P.; FINCH, E.A. Role of organic phosphates in the adaptation of man to hypoxia. Fed. Proc., 29(3): 1115-7, 1970.
86. LONGO, L.D. The biological effects of carbon monoxide on the pregnant woman, fetus and newborn infant. Am.J.Obstet. Gynecol., 129:69-103, 1977.
87. LORKIN, P.A. Fetal and embryonic hemoglobins. J.Med.Genet., 10:50-64, 1973.
88. MAC DONALD, R. Red cell 2,3-diphosphoglycerate and oxygen affinity. Anaesthesia, 32(6):544-53, 1977.
89. MERLET-BENICHOU, C. Le transport de l'oxygène par le sang foetal. Poumon Coeur, 31(4):197-201, 1975.
90. MICHEL, A.; POHLE, R.; ADRIAN, B.; DANIEL, A.; GROSS, J. Veränderungen der 2,3-DPG-Konzentration in roten Blutzellen und der Plasmaerythropoetinaktivität bei hypoxischen Neugeborenen. Acta Biol. Med. Germ., 36:375-9, 1977.
91. MILLER, R.A.; OSKI, F.A.; DIACO, J.F.; SUGERMAN, H.J.; GOTTLIEB, A.J.; DAVIDSON, D.; DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M. The affinity of hemoglobin for oxygen: its control and in vivo significance. Surgery, 68:187-95, 1970.
92. MILLER, W.W. Erythrocyte oxygen transport in normal infants and infants with cardiovascular disease. In: FRIEDMAN, W. F.; LESCH, M.; SONNENBLICH, E.H. Neonatal heart disease. New York, Grune & Stratton, 1972. p. 263-78.

93. MINAKAMI, S.; SAITO, T.; SUZUKI, C.; YOSHIKAWA, H. The hydrogen ion concentration and erythrocyte glycolysis Biochem.Biophys. Res. Commun., 17(6):748-51, 1964
94. MINAKAMI, S. & YOSHIKAWA, H. Studies on erythrocyte glycolysis. II. Free energy changes and rate limiting steps in erythrocyte glycolysis. J. Biochem., Tokyo, 59(2):139-44, 1966.
95. MINAKAMI, S. & YOSHIKAWA, H. Studies on erythrocyte glycolysis. III. The effects of active cation transport, pH and inorganic phosphate concentration on erythrocyte glycolyses. J. Biochem., Tokio, 59(2):145-50, 1966.
96. MOLTENO, C.D.; MALAN, A.F.; HEESE, H. de V. Acid-base determinations in normal and asphyxiated term infants during the first 24 hour of life. S. Afr. Med. J., 50:1931-4, 1976.
97. MONDALOU, E.; YEH, S.; HON, E.H. Fetal and neonatal acid-base balance in normal and high-risk pregnancies during labor and the first hour of life. Obstet. Gynecol., 43:347-53, 1974.
98. MORRIS, F.H. & BRUMLEY, G.W. Erythrocyte 2,3 - diphosphoglycerate concentrations in umbilical venous blood from normal and meconium-stained neonates. Am.J.Obstet.Gynecol., 119(7):988-90, 1974.
99. NAERAA, N.; PETERSEN, E.S.; BOYE, E.; SEVERINGHAUS, J.W. pH and molecular CO<sub>2</sub> components of the Bohr effects in human

- blood. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 18:96-102,1966.
100. NASCIMENTO, M.B. Determinação da P<sub>50</sub> e do 2,3-difosfoglicerato em lactentes desnutridos, com depleção e acidose. Curitiba, 1981. 100 p. Tese. Mestrado. Universidade Federal do Paraná.
101. NOVY, M.J.; FRIGOLETTO, F.D.; EASTERDAY, C.L.; UMANSKY, I.; NELSON, N.M. Changes in umbilical cord blood oxygen affinity after intrauterine transfusions for erythroblastosis N. Engl. J. Med., 285(11):589-95, 1971.
102. ORZALESI, M.M. & HAY, W.W. The regulation of oxygen affinity of fetal blood. I. In vitro experiments and results in normal infants. Pediatrics, 48(6):857-64, 1971.
103. ORZALESI, L.L. & HAY, W.W. The effect of intrauterine anemia on the oxygen affinity of fetal blood. Pediatr. Res., 9: 369, 1975.
104. OSKI, F.A. Clinical implications of the oxyhemoglobin dissociation curve in the neonatal period. Crit. Care Med., 7(9): 412-8, 1979.
105. \_\_\_\_\_. Fetal hemoglobin, the neonatal red cell, and 2,3-diphosphoglycerate. Ped. Clin. North. Am., 19(4):907-17, 1972.
106. \_\_\_\_\_. Hematological problems. In: AVERY, G.B. Neonatology: pathophysiology and management of the newborn. Philadelphia, J. B. Lippincott, 1975. p. 380-403.

107. OSKI, F.A.; DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M. The shift to the left. Pediatrics, 48(6):853-6, 1971.
108. OSKI, F.A.; GOTTLIEB, A.J.; DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M.; MILLER, W.W. Red-cell 2,3-diphosphoglycerate levels in subjects with chronic hypoxemia. N.Engl.J.Med., 280(21): 1165-6, 1969.
109. OSKI, F.A.; GOTTLIEB, A.J.; MILLER, W.W.; DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M. The effects of deoxygenation of adult and fetal hemoglobin on the synthesis of red cell 2,3-diphosphoglycerate and its in vivo consequences. J.Clin.Invest., 49:400-7, 1970.
110. OSKI, F.A. & KOMAZAWA, M. Metabolism of erythrocytes of the newborn infant. Semin. Hematol., 12(2):209-21, 1975.
111. PARKIN, J.M.; HEY, E.N.; CLOWES, J.S. Rapid assessment of gestational age at birth. Arch. Dis. Child., 51:259-63, 1976.
112. PERUTZ, M.F. Hemoglobin structure and respiratory transport. Sci. Am., 239(6):92-125, 1978.
113. \_\_\_\_\_. Stereochemistry of cooperative effects in haemoglobin. Nature, 228:726-39, 1970.
114. \_\_\_\_\_. Structure and mechanism of haemoglobin. Br. Med. Bull., 32(3):195-208, 1976.

115. PITTS, R.F. Volume e composição dos líquidos corporais. In: \_\_\_\_\_. Fisiologia renal e dos líquidos corporais. 3. ed. Chicago, Year Book, 1978. p. 11-35.
116. POYART, C.F. & BURSAUX, E. Conception actuelle de l'effet Bohr. Poumon Coeur, 31(4):173-6, 1975.
117. RÄIHÄ, N.C.R. Organic acids in fetal blood and amniotic fluid. Pediatrics, 32:1025-32, 1963.
118. RAPOPORT, S. & LEUBERING, J. Glycerate-2,3-diphosphate. J. Biol. Chem., 189:683-94, 1951.
119. RÖRTH, M. Dependency on acid-base status of blood of oxyhemoglobin dissociation and 2,3-diphosphoglycerate level in human erythrocytes. I. In vitro studies on reduced and oxygenated blood. Scand. J. Clin.Lab.Invest., 26:43-6, 1970.
120. ROSE, Z.B. Enzymes controlling 2,3-diphosphoglycerate in human erythrocytes. Fed. Proc., 29(3):1105-11, 1970.
121. ROSELLI, C.A.M. & SEGRE, C.A.M. Classificação do RN. In: SEGRE, C.A.M. & ARMELLINI, P.A. RN. São Paulo, Sarvier, 1981. p.27-40.
122. ROSENTHAL, A.; MENTZER, W.C.; EISENTEIN, E.B.; NATHAN, D. G.; NELSON, N.M.; NADAS, A.S. The role of red blood cell organic phosphates in adaptation to congenital heart diseases. Pediatrics, 47(3):537-47, 1971.

123. ROUGHTON, F.J.W. Some recent work on the interactions of oxygen, carbon dioxide and haemoglobin. Biochem.J., 117: 801-12, 1970.
124. SCHRUEFER, J.J.P.; HELLER, C.J.; BATTAGLIA, F.C.; HELLEGERS, A.E. Independence of whole blood and haemoglobin solution dissociation curves from haemoglobin type. Nature, 196:550-3, 1962.
125. SEVERINGHAUS, J.W. Blood gas calculator. J.Appl.Physiol., 21(3):1108-16, 1966.
126. A SHIFTING curve. Lancet, 2:784-6, 1969.
127. SIGGAARD-ANDERSEN, O. Blood acid-base alignment nomogram. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 15:211-7, 1963.
128. SIGMA CHEMICAL COMPANY. The colorimetric enzymatic determination of 2,3-diphosphoglycerate acid (2,3-DPG) in blood at 620-700 nm. Saint Louis, 1974. 16 p. (Sigma Technical Bulletin, 665).
129. SINGER, K.; CHERNOFF, A.I.; SINGER, L. Studies on abnormal hemoglobins. I. Their demonstration in sickle cell anemia and other hematologic disorders by means of alkali denaturation. Blood, 6:413-28, 1951.
130. STORMI, M.; MAGAGNO, F.; GORINI, M.R.; ZACCHI, T. Il 2,3-DPG nella gravida, nel neonato a termine e in quello di basso peso per l'età gestazionale. Minerva Pediatr., 29 (10):711-4, 1977.

131. THOMAS, E.D.; LOCHTE Jr., H.L. ; GREENOUGH, W.B.; WALES, M.  
In vitro synthesis of foetal and adult haemoglobin by  
foetal haematopoietic tissues. Nature, 185:396-7, 1960.
132. THOMAS, H.M. The oxyhemoglobin dissociation curve in health  
and disease. Role of 2,3-diphosphoglycerate. Am. J. Med.,  
57(3):331-48, 1974.
133. THOMAS, V.E.; ANEMA, R.J.; McNAMARA, J.J. Comparison of  
three methods for determining oxygen saturation in arte  
rial blood. Am. J. Med. Technol., 41(10):360-3, 1975.
134. TORRANCE, J.D. Clinical implications of the interaction  
between 2,3-diphosphoglycerate and hemoglobin. S. Af. J.  
Med. Sci., 39(1):33-61, 1974.
135. TORRANCE, J.D.; JACOBS, P.; RESTREPO, A.; ESCHBACH, J.;  
LENFANT, C.; FINCH, C.A. Intraerythrocyte adaptation  
to anemia. N. Engl. J. Med., 283(4):165-9, 1970.
136. TORRANCE, J.D. & LENFANT, C. Methods for determination  
of O<sub>2</sub> dissociation curves, including Bohr effect. Respir.  
Physiol., 8:127-36, 1969.
137. TYUMA, I. & SHIMIZU, K. Different response to organic  
phosphates of human fetal and adult hemoglobins. Arch.  
Biochem., 129:404-5, 1969.
138. TYUMA I. & SHIMIZU, K. Effect of organic phosphates on the  
difference in oxygen affinity between fetal and adult  
human hemoglobin. Fed. Proc., 29(3):1112-4, 1970.

139. VANNUCCI, B.C. Neurologic aspects of perinatal asphyxia. Pediatr. Ann., 7(12):802-12, 1978.
140. VEDRA, B. Oxygen and lactate levels in the umbilical vein blood of normal and asphyxiated newborn infants. Am.J. Obstet. Gynecol., 88(6):802-5, 1964.
141. VERSMOLD, H.T.; LINDERKAMP, C.; DÖHLEMANN, C.; RIEGEL, K. P. Oxygen transport in congenital heart disease: Influence of fetal hemoglobin, red cell pH, and 2,3-diphosphoglycerate. Pediatr. Res., 10:566-70, 1976.
142. WADDELL, W.J. & BATES, R.G. Intracellular pH. Physiol. Rev., 49(2):285-329, 1969.
143. WEATHERALL, D.J.; PEMBREY, M.E.; PRITCHARD, J. Fetal haemoglobine. Clin. Haematol., 3(2):467-508, 1974.
144. WEISS, R.R.; ROGINSKY, M.S.; MANN, L.J.; MELBER, A.; BACHORIK, J.; TEJANI, N.; BRAKTHAVATHBALAN, A.; EVANS, M.J. e-rythrocyte 2,3-diphosphoglycerate in normal and hypertensive gravid women and their newborn infants. Am.J. Obstet. Gynecol., 124(7):692-6, 1976.
145. WILSON, M.G.; SCHROEDER, W.A.; GRAVES, D.A. Postnatal change of hemoglobins F and A<sub>2</sub> in infants with Down's Syndrome (G trisomy). Pediatrics, 42(2):349-53, 1968.
146. WILSON, M.G.; SCHROEDER, W.A.; GRAVES, D.A.; KACH, V.D. Hemoglobin variations in D-trisomy syndrome. N.Engl.J. Med., 277(18):953-8, 1967.

147. WIMBERLEY, P.D.; WHITEHEAD, M.D.; HUEHNS, E.R. The effect of acidosis on red cell 2,3-diphosphoglycerate and oxygen affinity of whole foetal blood. Adv. Exp. Med. Biol., 94: 463-7, 1977.
148. WINTERHALTER, K.H. Does hemoglobin breathe, and if yes, how? The T and R state of hemoglobin. N. Engl. J. Med., 289:41-2, 1973.
149. WOOD, C.; FERGUSON, R.; LEETON, J.; NEWMAN, W.; WALKER, A. Fetal heart rate and acid-base status in the assessment of fetal hypoxia. Am. J. Obstet. Gynecol., 98(1):62-70, 1967.

A N E X O S

## ANEXO 01 - Registro de dados

DATA: \_\_\_\_\_  
 HORA: \_\_\_\_\_  
 Nº: \_\_\_\_\_ SEXO: \_\_\_\_\_  
 MATERNIDADE: \_\_\_\_\_ REG. MÃE: \_\_\_\_\_  
 NOME DA MÃE: \_\_\_\_\_ REG. RN: \_\_\_\_\_  
 IDADE: \_\_\_\_\_ GESTA: \_\_\_\_\_ PARA: \_\_\_\_\_ ABORTOS: \_\_\_\_\_  
 ÚLTIMA MENSTR.: \_\_\_\_\_ IDADE GEST.: \_\_\_\_\_  
 ANTICONC.: \_\_\_\_\_ TABAGISMO: \_\_\_\_\_ CIG./DIA: \_\_\_\_\_  
 MEDICAÇÃO ANTES DA INTERN.: \_\_\_\_\_  
 MEDICAÇÃO DURANTE A INTERN.: \_\_\_\_\_  
 HIST. GESTACIONAL - 1º TRIM.: \_\_\_\_\_  
 2º TRIM.: \_\_\_\_\_  
 3º TRIM.: \_\_\_\_\_  
 PRESSÃO ARTERIAL: \_\_\_\_\_ TEMP.AXIL.: \_\_\_\_\_ EDEMA MMII: \_\_\_\_\_  
 HEMATÓC.: \_\_\_\_\_ GR.SANG. - MÃE: \_\_\_\_\_ RN: \_\_\_\_\_ VDRL : \_\_\_\_\_  
 ANESTESIA - TIPO: \_\_\_\_\_ ANEST./DOSE: \_\_\_\_\_  
 TEMPO ANES.: \_\_\_\_\_ BCF: \_\_\_\_\_  
 APRESENTAÇÃO: \_\_\_\_\_ FÓRCEPS: \_\_\_\_\_  
 TTP: \_\_\_\_\_ TBR: \_\_\_\_\_ TPE: \_\_\_\_\_  
 LIQ. AMNIOT.: \_\_\_\_\_ T.LAQUEADURA: \_\_\_\_\_  
 CONDIÇÕES NASC.: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 SOFRIM. FETAL: \_\_\_\_\_  
 APGAR - 1º MIN.: \_\_\_\_\_ 5º MIN.: \_\_\_\_\_ 10º MIN.: \_\_\_\_\_  
 IMP. MECON. - PERI-UMBIL.: \_\_\_\_\_ PELE: \_\_\_\_\_ PLACENTA: \_\_\_\_\_  
 PLACENTA - PESO: \_\_\_\_\_  
 RN - PESO: \_\_\_\_\_ EST.: \_\_\_\_\_ PER.CEF.: \_\_\_\_\_  
 PARKIN: \_\_\_\_\_ DUBOWITZ: \_\_\_\_\_  
 EVOLUÇÃO: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

## ANEXO 01- Registro de dados (cont.)

GASOMETRIA<sub>1</sub>: pH: \_\_\_\_\_ PCO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_ PO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_ BE: \_\_\_\_\_ BIC: \_\_\_\_\_GASOMETRIA<sub>2</sub>: pH: \_\_\_\_\_ PCO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_ PO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_ BE: \_\_\_\_\_ BIC: \_\_\_\_\_MÉDIA : pH: \_\_\_\_\_ PCO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_ PO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_ BE: \_\_\_\_\_ BIC: \_\_\_\_\_

## TONOMETRIA

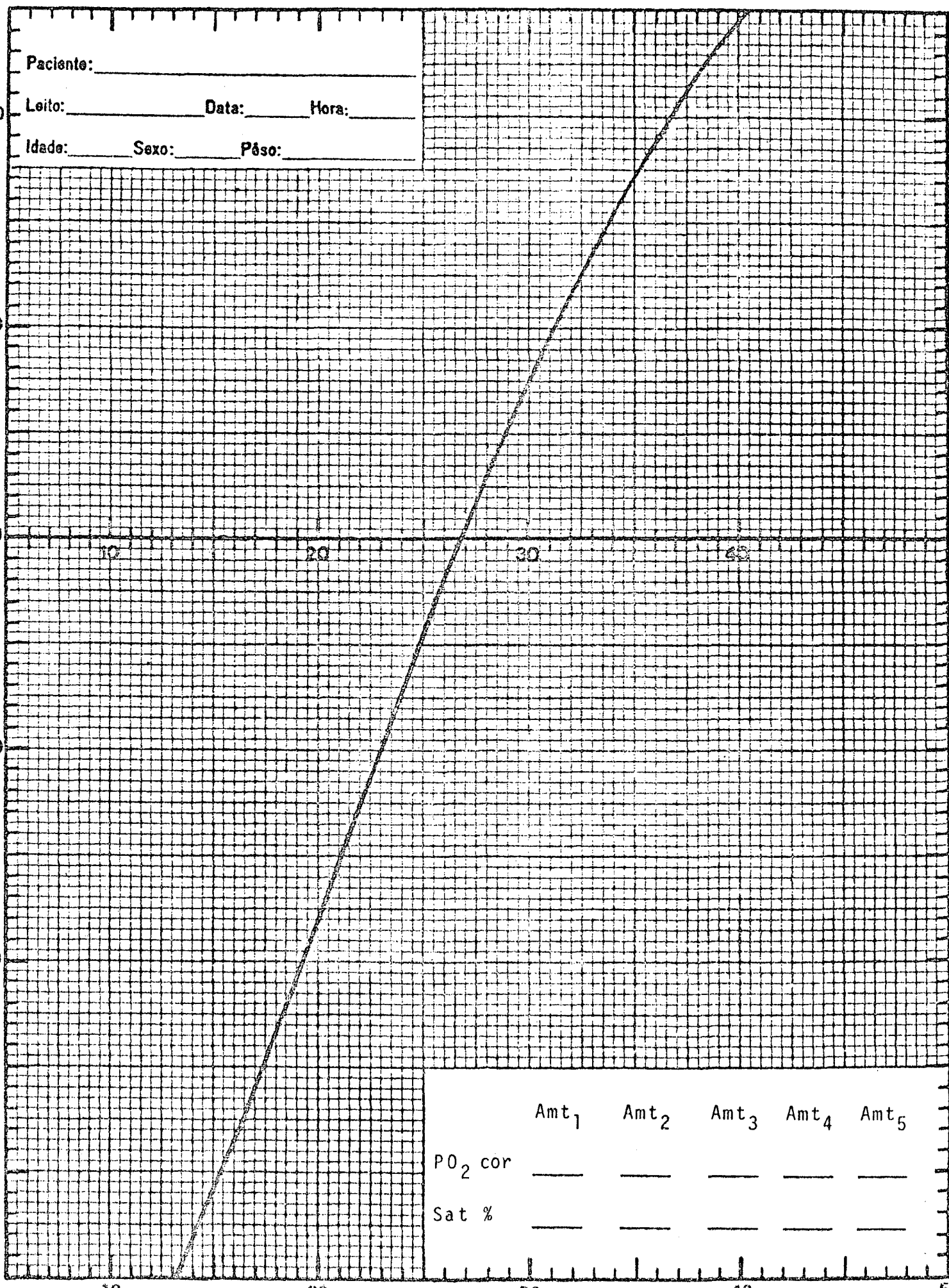
Amostra<sub>1</sub>: pH: \_\_\_\_\_ PCO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_ PO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_ SAT.: \_\_\_\_\_Amostra<sub>2</sub>: pH: \_\_\_\_\_ PCO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_ PO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_ SAT.: \_\_\_\_\_Amostra<sub>3</sub>: pH: \_\_\_\_\_ PCO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_ PO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_ SAT.: \_\_\_\_\_Amostra<sub>4</sub>: pH: \_\_\_\_\_ PCO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_ PO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_ SAT.: \_\_\_\_\_Amostra<sub>5</sub>: pH: \_\_\_\_\_ PCO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_ PO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_ SAT.: \_\_\_\_\_P<sub>50(7,4)</sub>: \_\_\_\_\_ P<sub>50(iv)</sub>: \_\_\_\_\_pH<sub>ie</sub><sup>1</sup>: \_\_\_\_\_ pH<sub>ie</sub><sup>2</sup>: \_\_\_\_\_ pH<sub>ie</sub><sup>3</sup>: \_\_\_\_\_ pH<sub>ie</sub><sup>m</sup>: \_\_\_\_\_HEMATÓC.<sub>1</sub>: \_\_\_\_\_ HEMATÓC.<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_ HEMATÓC.<sub>m</sub>: \_\_\_\_\_HGB<sub>1</sub> - DO: \_\_\_\_\_ HGB<sub>2</sub> - DO: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ g/dl \_\_\_\_\_ g/dl HGB<sub>m</sub>: \_\_\_\_\_ g/dlHGB FETAL<sub>1</sub> - DO<sub>t</sub>: \_\_\_\_\_ DO<sub>f</sub>: \_\_\_\_\_ %Hb-F: \_\_\_\_\_HGB FETAL<sub>2</sub> - DO<sub>t</sub>: \_\_\_\_\_ DO<sub>f</sub>: \_\_\_\_\_ %Hb-F: \_\_\_\_\_%Hb-F<sub>m</sub>: \_\_\_\_\_2,3-DPG - DO<sub>blank</sub>: \_\_\_\_\_ DO<sub>test</sub>: \_\_\_\_\_Cc<sub>blank</sub>: \_\_\_\_\_ Cc<sub>test</sub>: \_\_\_\_\_

2,3-DPG: \_\_\_\_\_ μM/ml-sg

\_\_\_\_\_ μM/ml-hem.

SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA

Sat HbO<sub>2</sub> %



Pressão Parcial de Oxigênio (mmHg)

Gráfico do Cálculo de P<sub>50</sub>

ANEXO 02 - Recêm-nascidos a termo, vigorosos (controles).

nº	Sexo	Paridade	Tabagismo (nº cig/dia)	Idade Gestacional			Pressão arterial materna* §	Medicação utilizada*		Tempo antes do parto
		Gesta/ para		Tempo de amenorréia	Met. de Parkin	Met. de Dubowitz		Droga	Dose	
01	Fem.	I/0	não	40s 6d		40s	110x60	Meperidina Prometazina	50mg 25mg	nr nr
02	Fem.	II/I	não	41s 1d		40s 1/2	120x80	Ocitocina	2 un.	nr
03	Masc.	III/I	não	39s 3d		38s 1/2	120x80	-	-	-
04	Fem.	IV/III	não	40s 2d		38s	120x85	-	-	-
05	Fem.	II/0	não	40s 3d		40s	110x80	-	-	-
06	Masc.	II/I	não	40s		39s 1/2	110x70	Ocitocina	2 un.	nr
07	Fem.	I/0	não	39s 5d		39s	130x85	Ocitocina	5 un.	nr
08	Masc.	II/I	não	40s		39s	120x80	Ocitocina	2 un.	nr
09	Masc.	I/0	não	40s 1d		39s 1/2	120x80	Diazepan Ocitocina	10mg 2 un.	nr nr
10	Masc.	XI/VII	não	40s		40s 1/2	110x70	Ocitocina	2 un.	nr
11	Masc.	II/I	não	39s 6d		39s 1/2	120x80	-	-	
12	Fem.	VII/VI	não	39s 3d		40s	130x85	Ocitocina	2 un.	nr
13	Fem.	II/I	não	40s 2d		40s	110x60	-	-	
14	Fem.	I/0	não	40s 6d		40s 1/2	130x80	Metoclorpramida	10mg	3 hs.

\* Durante o trabalho de parto

§ em mm de Hg.

nr = não registrado

ANEXO 02 (cont.) - Recém-nascidos a termo, vigorosos (controles).

nº	Sexo	Paridade	Tabagismo	Idade Gestacional			Pressão	Medicação utilizada*		
		Gesta/ para	(nº cig/dia)	Tempo de amenorréia	Met. de Parkin	Met. de Dubowitz	arterial materna*§	Droga	Dose	Tempo antes do parto
15	Fem.	I/0	não	38s 6d		38s 1/2	120x80	-	-	-
16	Masc.	II/I	não	39s		39s	120x80	-	-	-
17	Masc.	VII/V	não	38s 2d		40s	140x90	-	-	-

\* Durante o trabalho de parto

§ em mm de Hg.

ANEXO 03 - Recẽm-nascidos a termo, vigorosos (controles).

nº	Forceps	Circular-de- cordão (nº)	Tempo de laqueadura (seg.)	Impregnação de mecônio	Escore de Apgar		Peso de nascimento (g)
					1º min.	5º min.	
01	não	não	45	não	9	9	2950
02	não	não	45	não	9	10	3245
03	não	não	40	não	8	10	3400
04	não	não	45	não	9	10	2890
05	não	não	40	não	9	10	2930
06	não	não	40	não	9	10	3100
07	Kielland	não	35	não	9	9	3000
08	Simpson	não	35	não	7	9	3500
09	Simpson	não	35	não	8	9	3700
10	não	01	45	não	9	10	3970
11	não	02	40	não	8	9	3250
12	não	02	35	não	9	9	3240
13	não	não	35	não	8	9	3450
14	não	01	40	não	9	10	2870
15	não	não	30	não	9	10	3500
16	não	não	40	não	8	9	3510
17	não	não	40	não	8	9	3650

ANEXO 04 - Recêm-nascidos a termo, vigorosos (controles).

nº	Gasometria de cordão						P <sub>50(7,4)</sub> <sup>+</sup>	P <sub>50(iv)</sub> <sup>+</sup>	pH <sub>ie</sub> <sup>**</sup>	(pH - pH <sub>ie</sub> )
	pH <sup>*</sup>	PCO <sub>2</sub> <sup>+</sup>	PO <sub>2</sub> <sup>+</sup>	BE <sup>++</sup>	Bic <sup>+++</sup>					
01	7,273	35,6	20,6	-9,5	16,0	19,31	21,60	7,050	0,220	
02	7,296	42,2	14,3	-5,5	21,0	17,91	19,83	7,090	0,206	
03	7,292	43,2	13,8	-5,5	20,5	20,38	22,62	7,098	0,194	
04	7,308	35,4	17,2	-8,0	17,4	17,72	19,18	7,108	0,200	
05	7,216	43,9	16,6	-10,5	17,3	19,97	23,80	7,030	0,186	
06	7,204	55,1	14,4	-7,5	21,5	21,92	26,68	6,974	0,230	
07	7,218	45,6	24,3	-9,5	18,2	19,64	23,39	6,957	0,261	
08	7,286	39,2	30,0	-7,5	18,2	19,23	21,36	6,999	0,287	
09	7,240	36,6	31,7	-11,5	15,0	21,58	24,97	6,913	0,327	
10	7,285	36,8	30,0	-8,5	17,0	19,11	21,18	7,087	0,198	
11	7,474	40,2	22,8	+5,5	29,5	20,87	19,53	7,227	0,247	
12	7,342	34,5	30,5	-6,0	18,5	22,25	23,32	7,026	0,316	
13	7,312	38,6	22,6	-6,0	19,0	19,42	21,04	7,084	0,228	
14	7,240	40,8	21,0	-10,0	17,0	20,50	23,79	7,040	0,200	
15	7,379	28,4	19,1	-7,0	16,5	19,25	19,30	7,093	0,286	
16	7,330	38,4	28,8	-5,0	20,0	19,46	20,73	6,988	0,342	
17	7,384	30,8	31,9	-5,0	18,2	18,51	18,56	7,076	0,308	

\* pH plasmático - unidades de pH

++ mEq/l

\*\* pH intra-eritrocitário - unidades de pH

+++ Bicarbonato Real - mEq/l

+ mm de Hg

ANEXO 05 - Recêm-nascidos a termo, vigorosos (controles).

nº	Hematócrito (%)	Hemoglobina (g/dl)	Hemoglobina Fetal (%)	2,3-DPG*	"Fração Funcionante de 2,3-DPG"*	"Fração Efetiva de 2,3-DPG"*
01	43	12,14	59,48	5,12	2,07	3,29
02	54	16,30	65,18	4,22	1,47	2,57
03	48	13,57	56,10	5,62	2,47	3,73
04	48	14,52	74,24	5,42	1,40	3,01
05	63	17,74	70,12	4,76	1,42	2,76
06	54	16,77	63,99	4,63	1,67	2,85
07	56	18,22	67,88	4,37	1,40	2,59
08	47	15,17	66,51	4,79	1,60	2,88
09	57	17,13	57,23	5,61	2,40	3,68
10	51	14,75	67,55	4,80	1,56	2,85
11	55	15,11	62,75	5,18	1,93	3,23
12	48	15,43	66,61	4,90	1,64	2,94
13	53	17,01	66,39	4,24	1,42	2,55
14	50	14,04	56,49	4,90	2,13	3,24
15	46	13,85	54,22	5,33	2,44	3,60
16	47	14,70	62,93	4,67	1,73	2,91
17	48	16,28	72,50	4,79	1,32	2,71

\*  $\mu\text{moles/ml}$  de hemácias

ANEXO 06 - Recém-nascidos com sofrimento fetal agudo (SFA)

nº	Sexo	Paridade Gesta/ para	Tabagismo (nº cig/dia)	Idade Gestacional			Pressão arterial materna*§	Medicação utilizada*		
				Tempo de amenorréia	Met. de Parkin	Met. de Dubowitz		Druga	Dose	Tempo antes do parto
01	Masc.	I/0	não	38s 1d		39s	130x85	Orciprenalina Betametazona Diazepan	5mg 8mg 10mg	nr nr 10 hs
02	Masc.	II/I	não	40s 3d		41s	130x70	-	-	-
03	Masc.	I/0	não	40s 2d		39s 1/2	155x95	Ocitocina	2 un.	nr
04	Masc.	II/I	01	41s 5d		39s	120x90	-	-	-
05	Masc.	I/0	não	40s 4d		40s	110x80	-	-	-
06	Masc.	I/0	01	39s 4d		39s 1/2	155x110	Diazepan	120mg	24 hs
07	Masc.	I/0	não	38s		38s	120x85	-	-	-
08	Masc.	I/0	2 - 3	40s 4d		40s	140x90	Ocitocina	2 un.	-
09	Masc.	II/0	não	39s 5d		39s	130x100	Ocitocina	2 un.	-
10	Fem.	I/0	não	39s 2d		39s	120x60	Dimenidrato Prometazina	25mg 25mg	nr nr
11	Masc.	II/I	não	38s 4d		39s 1/2	100x60	-	-	-
12	Fem.	I/0	não	41s 2d		40s	90x60	Ocitocina	2 un.	nr
13	Fem.	I/0	não	41s 5d		40s	110x80	Diazepan Meperidina Prometazina	70mg 50mg 25mg	24 hs 8 hs 8 hs
14	Masc.	I/0	não	40s 6d		39s 1/2	120x80	Ocitocina	6 un.	nr
15	Fem.	I/0	não	39s	40s	-	200x140	Diazepan Propoxifeno Diciclomina	40mg 75mg 20mg	10 hs nr nr
16	Masc.	I/0	não	39s 6d		39s 1/2	120x70	-	-	-

\* durante o trabalho de parto

nr: não registrada

§ em mm de Hg

## ANEXO 07 - Recém-nascidos com sofrimento fetal agudo (SFA)

nº	Forceps	Circular-de-cordão (nº)	Tempo de laqueadura (seg.)	Impregnação de mecônio	Escore de Apgar		Peso de nascimento (g)
					1º min.	5º min.	
01	Kielland	01	20	sim	1	4	2650
02	não	não	30	sim	6	7	3570
03	não	não	30	não	6	9	3275
04	não	01	30	não	5	8	4150
05	não	não	nr*	não	5	9	3420
06	Kielland	não	20	sim	6	8	3730
07	Kielland	não	30	não	5	9	2950
08	não	não	45	não	6	9	3075
09	Kielland	01	20	sim	3	7	3175
10	não	não	45	sim	5	9	2825
11	Simpson	não	35	não	6	8	3500
12	Simpson	não	30	sim	5	6	3420
13	não	01	30	sim	2	6	2900
14	Kielland	01	20	sim	2	4	3850
15	não	não	30	não	2	3	2700
16	Simpson	02	30	não	4	8	3200

\* nr: não registrado

ANEXO 08 - Recém-nascidos com sofrimento fetal agudo (SFA).

nº	pH <sup>*</sup>	PCO <sub>2</sub> <sup>+</sup>	Gasometria de cordão		Bic <sup>+++</sup>	P <sub>50(7,4)</sub> <sup>+</sup>	P <sub>50(iv)</sub> <sup>+</sup>	pH <sub>ie</sub> <sup>**</sup>	(pH - pH <sub>ie</sub> )
			PO <sub>2</sub> <sup>+</sup>	BE <sup>++</sup>					
01	7,272	34,4	21,3	-10,5	15,0	20,29	22,68	7,154	0,112
02	7,146	57,4	9,8	-10,5	19,2	18,77	24,15	6,994	0,152
03	7,152	42,6	16,6	-14,5	14,5	17,98	22,67	7,028	0,124
04	7,287	49,2	9,4	- 4,0	23,6	19,60	21,97	7,096	0,191
05	7,291	49,4	16,2	- 4,0	22,8	17,33	19,34	7,098	0,193
06	7,238	42,3	20,6	- 9,5	17,2	19,09	22,23	7,065	0,173
07	7,223	46,2	11,8	- 8,5	18,3	17,53	20,82	7,043	0,180
08	7,101	57,4	21,9	-13,5	17,0	19,28	25,86	6,901	0,200
09	7,136	47,4	17,6	-14,5	15,0	18,53	23,83	6,969	0,167
10	7,136	51,4	13,6	-12,5	16,8	18,74	24,20	6,928	0,208
11	7,117	48,7	26,1	-15,0	15,0	19,73	25,88	6,841	0,276
12	7,151	48,2	28,9	-13,0	16,0	19,62	24,92	6,916	0,235
13	7,185	37,1	19,4	-15,0	13,5	19,74	23,99	7,029	0,156
14	7,212	39,5	8,8	-12,0	15,0	18,54	22,06	7,002	0,210
15	6,984	61,4	14,0	-20,0	14,5	18,14	27,19	6,782	0,202
16	7,116	62,2	16,1	-11,5	19,0	18,68	24,78	6,936	0,180

\* pH plasmático - unidades de pH

++ mEq/l

\*\* pH intra-eritrocitário - unidades de pH

+++ Bicarbonato Real - mEq/l

+ mm de Hg

ANEXO 09 - Recém-nascidos com sofrimento fetal agudo (SFA)

nº	Hematócrito (%)	Hemoglobina (g/dl)	Hemoglobina Fetal (%)	2,3-DPG*	"Fração Funcionante* de 2,3-DPG"	"Fração Efetiva* de 2,3-DPG"
01	48	12,97	64,32	4,38	1,56	2,69
02	51	14,64	61,02	3,72	1,45	2,36
03	55	16,07	76,82	4,54	1,05	2,45
04	53	15,71	70,28	4,43	1,32	2,56
05	42	14,64	-	5,48	-	-
06	55	14,76	64,05	4,54	1,63	2,80
07	48	12,58	66,48	3,85	1,29	2,31
08	52	15,07	62,35	5,00	1,88	3,13
09	60	18,35	69,69	4,83	1,46	2,81
10	45	12,64	68,53	4,15	1,31	2,44
11	56	17,37	72,15	4,42	1,23	2,51
12	50	15,19	52,13	3,30	1,58	2,27
13	63	20,41	67,05	3,89	1,28	2,32
14	56	17,50	65,90	4,20	1,43	2,54
15	48	14,94	58,93	2,92	1,20	1,89
16	52	15,92	65,41	4,67	1,62	2,84

\*  $\mu\text{moles/ml}$  de hemácias

ANEXO 10 - Recém-nascidos pré-termo

nº	Sexo	Paridade Gesta/ para	Tabagismo (nº cg/dia)	Idade Gestacional		Pressão arterial materna*§	Medicação utilizada*			
				Tempo de amenorréia	Met. de Parkin		Met. de Dubowitz	Droga	Dose	Tempo antes do parto
01	Masc.	VIII/VII	1 - 2	34s		34s 1/2	140x80	-	-	-
02	Masc.	I/0	4	31s 1d		32s	130x80	Diazepan Betametazona Orciprenalina	nr nr nr	nr nr nr
03	Masc.	II/I	não	33s 2d		34s 1/2	130x70	Orciprenalina Betametazona Diazepan	5 mg 4 mg 10 mg	nr nr nr
04	Fem.	I/0	não	32s 5d		32d 1/2	100x60	-	-	-
05	Fem.	III/II	não	36s 3d		38s	110x80	Ocitocina	nr	nr
06	Fem.	VI/IV	não	34s 4d		34s	100x70	Ocitocina	nr	nr
07	Fem.	II/I	não	33s 2d		32s 1/2	110x80	-	-	-
08	Masc.	II/I	não	35s 5d		36s 1/2	120x90	Ocitocina	2 un.	-
09	Masc.	I/0	4	36s 3d		38s	140x85	-	-	-
10	Masc.	I/0	não	33s 1d	34s 1/2	-	110x70	-	-	-
11	Masc.	VI/I	não	36s 3d		35s 1/2	100x60	Ampicilina Isoxsuprina	nr nr	- -
12	Masc.	IV/I	não	36s 6d		37s	120x80	-	-	-
13	Masc.	VII/V	não	37s 3d		38s	90x70	Ocitocina	2 un.	nr
14	Fem.	I/0	não	33s 3d		36s 1/2	110x70	Diazepan Betametazona Isoxsuprina	10 mg 4 mg 100 mg	nr nr nr
15	Masc.	I/0	não	36s 6d		36s	120x80	-	-	-

\* Durante o trabalho de parto

nr: não registrado

§ . em mm de Hg

ANEXO 11 - Recêm-nascidos prē-termo

nº	Forceps	Circular-de-cordão (nº)	Tempo de laqueadura (seg.)	Impregnação de mecônio	Escore de Apgar		Peso de nascimento (g)
					1º mín.	5º mín.	
01	não	não	60	não	7	8	2060
02	não	não	60	não	8	9	1610
03	não	não	45	não	8	10	1800
04	não	não	60	não	8	9	2200
05	Kielland	não	45	não	10	10	3150
06	não	não	60	não	8	10	2400
07	não	não	60	não	7	9	1650
08	não	não	60	não	9	10	2450
09	não	01	40	não	7	8	2650
10	não	não	50	não	9	10	1980
11	não	não	45	não	7	9	2500
12	não	01	40	não	9	9	2520
13	não	não	45	não	8	9	2750
14	não	não	60	não	9	10	2150
15	não	não	45	não	9	10	2770

ANEXO 12 - Recém-nascidos prē-termo

nº	Gasometria de cordão						P <sub>50(7,4)</sub> <sup>+</sup>	P <sub>50(iv)</sub> <sup>+</sup>	pH <sub>ie</sub> <sup>**</sup>	(pH - pH <sub>ie</sub> )
	pH <sup>*</sup>	PCO <sub>2</sub> <sup>+</sup>	PO <sub>2</sub> <sup>+</sup>	BE <sup>++</sup>	Bic <sup>+++</sup>					
01	7,314	36,4	29,48	-7,0	18,0	18,40	19,83	7,094	0,220	
02	7,344	33,1	25,40	-7,0	17,5	16,36	17,05	7,046	0,298	
03	7,238	34,3	19,30	-12,0	14,2	16,99	19,64	7,031	0,207	
04	7,293	34,1	20,00	-9,0	16,2	16,61	18,22	7,031	0,262	
05	7,263	43,1	10,60	-8,0	19,0	17,76	20,21	7,012	0,251	
06	7,362	36,8	31,50	-3,7	20,3	19,13	19,74	7,152	0,210	
07	7,343	37,0	25,80	-5,0	20,0	17,52	18,39	7,030	0,313	
08	7,378	36,4	28,00	-3,0	21,0	16,72	16,98	7,162	0,216	
09	7,282	39,7	20,30	-8,0	18,2	19,03	21,20	7,036	0,246	
10	7,302	37,2	41,50	-8,0	17,3	17,33	18,88	7,051	0,251	
11	7,344	35,45	22,40	-5,5	19,0	17,80	18,64	7,078	0,256	
12	7,408	29,20	22,20	-4,7	18,2	19,61	19,16	7,056	0,352	
13	7,364	31,60	16,40	-6,0	17,7	18,07	18,48	7,006	0,358	
14	7,370	31,20	21,00	-6,0	17,6	17,45	17,72	7,108	0,262	
15	7,260	44,70	17,30	-7,5	19,5	19,03	21,76	7,013	0,247	

\* pH plasmático - unidades de pH

++ mEq/l

\*\* pH intra-eritrocitário - unidades de pH

+++ Bicarbonato Real - mEq/l

+ mm de Hg

ANEXO 13 - Recém-nascidos prē-termo

nº	Hematócrito (%)	Hemoglobina (g/dl)	Hemoglobina Fetal (%)	2,3-DPG*	"Fração Funcionante de 2,3-DPG"*	"Fração Efetiva de 2,3-DPG"*
01	52	16,50	66,70	6,05	2,01	3,63
02	45	14,73	84,53	4,78	0,74	2,36
03	51	14,46	71,27	4,80	1,38	2,75
04	43	13,73	74,32	4,77	1,22	2,64
05	47	15,80	61,62	5,64	2,16	3,55
06	51	15,55	66,83	6,18	2,05	3,70
07	55	17,86	82,81	4,54	0,78	2,28
08	54	17,25	88,81	5,28	0,59	2,47
09	50	15,19	75,82	5,60	1,35	3,05
10	52	16,40	75,18	3,85	0,96	2,11
11	49	15,91	77,17	4,29	0,98	2,30
12	50	16,89	82,42	4,90	0,86	2,48
13	53	17,38	66,29	3,77	1,27	2,27
14	46	15,79	69,36	4,24	1,30	2,48
15	56	18,46	57,84	5,13	2,16	3,35

\*  $\mu$ moles/ml de hemácias