



Clinical value of lactate measurement and nucleated red blood cell counts in the placental segment of the umbilical vein of premature newborns for diagnosis of hypoxia-ischemia

Importância clínica da dosagem de lactato e contagem de eritroblastos no sangue colhido no segmento placentário da veia umbilical para o diagnóstico de hipóxia-isquemia em prematuros

Yvi Gea¹, Orlei Araujo², Luiz Vicente R. Silva³

Resumo

Objetivo: Determinar a validade clínica das dosagens de lactato e contagem de eritroblastos quando comparados com o excesso de bases (EB) em sangue do segmento placentário da veia umbilical de prematuros.

Métodos: foram colhidas amostras de 25 prematuros, após ligadura e dequitação. Os prematuros foram seguidos até a alta. Estatística incluiu regressão linear, correlação de Spearman, curvas ROC, Teste de Fisher.

Resultados: Lactato mostrou boa correlação com pH e EB ($p < 0,0001$). Níveis de lactato de 4,04 mmol/L mostraram sensibilidade de 62,5% e especificidade de 91,1% em discriminar $pH < 7,2$ e $EB < -10$ mmol/L. Contagens de eritroblastos mostraram boa correlação com o EB ($p = 0,0095$), mas sensibilidade de 37,5% e especificidade 82,4% em discriminar $EB < 10$ mmol/L.

Conclusões: Lactato é um marcador válido para hipóxia fetal, em amostras do segmento placentário das veias umbilicais. Contagens de eritroblastos apresentaram baixa sensibilidade na discriminação da acidose.

J Pediatr (Rio J). 2007;83(2):186-190: Lactato, eritroblastos, prematuro, sofrimento fetal.

Abstract

Objective: To evaluate the clinical value of lactate measurement and nucleated red blood cell (NRBC) counts when compared to base excess (BE) in the blood collected from the placental segment of the umbilical vein.

Methods: 25 umbilical cords from premature babies were sampled after placental delivery and cord clamping. Babies were followed until discharge. Statistics involved linear regression, Spearman's correlation, ROC curves, and Fisher's exact test.

Results: The relationship between lactate in the umbilical vein blood and pH and BE was significant ($p < 0.0001$). A 4.04 mmol/L lactate level showed a sensitivity of 62.5% and a specificity of 94.1% in detecting $pH < 7.2$ and $BE < -10$ mmol/L. NRBC counts were related to BE ($p = 0.0095$), but with a sensitivity of 37.5% and specificity of 82.4% in detecting $BE < -10$ mmol/L.

Conclusions: Lactate is a valuable marker of fetal hypoxia when sampled from placental segment veins. NRBC counts demonstrated low sensitivity for the detection of acidosis.

J Pediatr (Rio J). 2007;83(2):186-190: Lactate, erythroblasts, premature babies, fetal distress.

1. Pediatra. Mestre, Faculdade de Ciências Médicas, Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP. Serviço de Pediatria, Hospital e Maternidade Santa Marina, São Paulo, SP.
2. Mestre, Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina (UNIFESP-EPM), São Paulo, SP. Coordenador, Serviço de Pediatria, Hospital e Maternidade Santa Marina, São Paulo, SP.
3. Doutor. Professor, Departamento de Pediatria, Faculdade de Ciências Médicas, Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP.

Artigo submetido em 03.07.06, aceito em 14.11.06.

Como citar este artigo: Gea Y, Araujo O, Silva LV. Clinical value of lactate measurement and nucleated red blood cell counts in the placental segment of the umbilical vein of premature newborns for diagnosis of hypoxia-ischemia. *J Pediatr (Rio J)*. 2007;83(2):186-190.

doi 10.2223/JPED.1597

Introdução

Marcadores bioquímicos são instrumentos valiosos para a detecção de eventos hipóxico-isquêmicos. Historicamente, o pH umbilical fetal e o excesso de base (EB) são usados como marcadores de insulto hipóxico-isquêmico, refletindo a produção celular de ácidos metabólicos em consequência de hipoxemia. Sugeriu-se o lactato como um método útil na detecção de hipóxia fetal¹. As contagens de eritroblastos aumentam com os níveis mais altos de eritropoietina em resposta à hipóxia tecidual, e estudos demonstraram a relação entre esse marcador e a hipóxia/isquemia perinatal^{2,3}. Tanto a dosagem de lactato como a contagem de eritroblastos vêm sendo investigados como indicadores prognósticos a curto e longo prazo, porém, os resultados têm sido conflitantes^{1,4-6}.

O objetivo deste estudo foi avaliar a dosagem de lactato e a contagem de eritroblastos no sangue colhido no segmento placentário da veia umbilical de prematuros em relação aos valores de EB. Também investigamos as correlações do lactato e dos eritroblastos com os escores de Apgar e complicações maternas, e seguimos prospectivamente esses lactentes até a alta hospitalar, a fim de avaliar o valor prognóstico dos marcadores em relação ao desfecho a curto prazo.

Métodos

Avaliamos 25 prematuros nascidos em um hospital terciário no Brasil entre abril de 2004 a janeiro de 2005. Os critérios de inclusão foram idade gestacional < 37 semanas, peso < 2.000 g, e consentimento informado assinado pela mãe. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas da instituição. Malformações congênitas, diabetes materno e incompatibilidade sangüínea foram usados como critérios de exclusão. Imediatamente após a dequitação, uma amostra de sangue de 0,5 mL foi coletada da veia umbilical no segmento próximo à inserção da placenta, utilizando-se seringas plásticas heparinizadas de 5 mL, e depois preservada no gelo. A amostra de sangue também foi colocada em frascos contendo fluoreto de sódio para a dosagem de lactato e em frascos de K3-EDTA para a contagem de eritroblastos. A gasometria foi realizada 30 minutos após a amostragem através de um analisador Rapid Lab 865 (Bayer). O lactato sérico foi analisado através de um método enzimático (Ortho-Clinical Diagnostics – Vitros 750, Johnson & Johnson). Os eritroblastos e leucócitos foram contados por meio de microscopia manual do esfregaço sangüíneo, e a contagem foi confirmada por um segundo técnico. Os eritroblastos foram calculados como o número de eritroblastos por 100 leucócitos.

A acidose ao nascimento é classicamente definida como EB no sangue umbilical arterial menor que -12 mmol/L, que equivale aproximadamente a 2 desvios-padrão (DP) abaixo da média para recém-nascidos normais⁷⁻⁹. Nodwell et al. mostraram que os valores gasométricos são diferentes nos

segmentos placentário e umbilical após ligadura do cordão umbilical e dequitação. Os valores observados para o EB no segmento placentário foram de -3,4 (média) \pm 2,2 (DP)¹⁰. Definimos nosso critério de avaliação final para acidose como EB igual ou inferior a -10 mmol/L, o que corresponde a 3 DP abaixo da média, com base nesses valores.

Para o desfecho a curto prazo, coletamos prospectivamente informações sobre a ocorrência de infecção perinatal (definida pelos sinais e sintomas clínicos ou pela hemocultura positiva, ou ambos), hemorragia periventricular ou intraventricular (avaliada por ultra-som craniano), enterocolite necrotizante, necessidade de drogas vasoativas, nutrição parenteral, hemoderivados, oxigênio, ventilação mecânica (invasiva ou não-invasiva). Os dados clínicos também foram coletados para calcular o escore CRIB (*Clinical Risk Index for Babies*) nas primeiras 12 horas de vida¹¹. A dosagem de lactato e correlações com a contagem de eritroblastos foram investigadas para cada um desses fatores. Os escores de Apgar e complicações maternas (infecção, hipertensão, rompimento precoce da bolsa mais de 18 horas antes do parto) também foram analisados quanto a possíveis relações com os marcadores. Infecção materna foi definida como a presença de febre, leucocitose, ou antibioticoterapia por motivos como infecção urinária ou pneumonia ao nascimento. Uma vez que o exame neurológico de prematuros não fornece informações confiáveis, esse critério foi excluído.

A significância estatística das correlações entre os marcadores investigados e pH, EB, PCO₂, saturação de O₂ e nível de oxigênio no sangue foi determinada pela análise de regressão linear com intervalos de confiança de 99%. Para a comparação entre os escores (Apgar e CRIB) e os marcadores, foi usada a correlação não-paramétrica de Spearman. Através das curvas ROC (*receiver operating characteristic*) e de tabelas de contingência, determinamos o valor dos marcadores na discriminação da acidose, e estabelecemos os pontos de corte para esse parâmetro. Também investigamos a presença de um valor maior que os pontos de corte definidos para a ocorrência de fatores relacionados ao desfecho perinatal através do teste exato de Fisher. A análise estatística foi realizada pelo software Analyse-it (www.analyse-it.com).

Resultados

As características clínicas, eventos perinatais e suas relações com os marcadores estudados são apresentados na Tabela 1. As médias e desvios-padrão foram determinados da seguinte forma: lactato 4,26 \pm 3,78 mmol/L; contagem de eritroblastos 20,52 \pm 37,96 células/100 leucócitos; EB, -9,35 \pm 5,99 mmol/L; pH, 7,22 \pm 0,17; CO₂, 46,06 \pm 17,74 mmHg. A Figura 1 mostra a correlação entre os valores sangüíneos umbilicais para o lactato e EB (R² = 0,72, p < 0,0001). Para a discriminação da acidose (EB < -10 mmol/L), a área sob a curva ROC foi de 0,842. A sensi-

bilidade de um ponto de corte de 4,04 mmol/L para o lactato em relação a um EB inferior ou igual a -10 mmol/L foi de 62,5%, e a especificidade foi de 94,1%, com um valor preditivo positivo de 83,3%, e um valor preditivo negativo de 84,2%. Os mesmos valores foram observados para o pH. Embora o pH e CO₂ não tenham sido usados como critérios de avaliação final, devido a sua variabilidade causada pelo metabolismo placentário e troca gasosa após a ligadura umbilical, observamos uma forte relação entre lactato e pH ($R^2 = 0,82$, $p < 0,0001$), e entre lactato e PCO₂ ($R^2 = 0,6$, $p < 0,0001$). Houve uma fraca correlação entre lactato e bicarbonato ($R^2 = 0,23$, $p = 0,014$), e nenhuma correlação foi

encontrada entre lactato e nível sanguíneo de O₂, PO₂ e saturação de oxigênio da hemoglobina, e escores de Apgar. Os escores de Apgar também não apresentaram correlação com o pH e EB.

As contagens de eritroblastos se correlacionaram ao EB ($R^2 = 0,26$, $p = 0,009$) e ao pH ($R^2 = 0,38$, $p = 0,009$). Um ponto de corte de 10 eritroblastos/100 leucócitos demonstrou baixa sensibilidade (40%) e uma especificidade de 80% para acidose mais grave (EB menor que -12 mmol/L). Para o nosso critério de avaliação final (EB menor que -10 mmol/L), a contagem de eritroblastos não foi um método adequado,

Tabela 1 - Características dos pacientes, eventos perinatais e sua relação com a dosagem de lactato e contagem de eritroblastos

		Relação com lactato	Relação com eritroblastos
Idade gestacional (semanas, média ±DP, mínimo, máximo)	33,57±1,98 (29-36,8)	NS*	NS*
Gênero (proporção entre meninos e meninas)	15/10	NS [†]	NS [†]
Escore de Apgar no 1º minuto (mediana, mín, máx)	8 (1-9)	NS*	$p = 0,029$ (RS = -0,41)
Escore de Apgar no 5º minuto (mediana, mín, máx)	9 (7-10)	NS*	$p = 0,002$ (RS = -0,53)
Peso de nascimento (kg, média ± DP, mín, máx)	1.701±0,233 (1.075-2.000)	NS*	NS*
Escore CRIB (mediana, mín, máx)	4 (1-12)	NS*	NS*
Infecção materna (proporção e %)	9/25 (36%)	NS [†]	NS [†]
Hipertensão materna (proporção e %)	6/25 (24%)	NS [†]	NS [†]
Rompimento precoce da bolsa mais de 18 horas antes do parto (proporção e %)	10/25 (40%)	NS [†]	NS [†]
Infecção perinatal (proporção e %)	13/25 (52%)	NS [†]	NS [†]
Necessidade de hemoderivados	10/25 (40%)	NS [†]	NS [†]
Necessidade de ventilação mecânica invasiva	9/25 (36%)	NS [†]	NS [†]
Necessidade de nutrição parenteral	5/26 (19,2%)	NS [†]	NS [†]
Necessidade de drogas vasoativas (proporção e %)	10/25 (40%)	NS [†]	NS [†]
Enterocolite necrotizante (grau 2 ou superior de acordo com a classificação de Bell, proporção e %)	3/25 (12%)	NS [†]	$p = 0,026^{\dagger}$
Hemorragia periventricular ou ventricular (grau I a IV, proporção e %)	5/25 (20%)	NS [†]	NS [†]

NS = não-significativo; RS = Coeficiente de correlação de Spearman.

* Correlação não-paramétrica de Spearman.

† Teste exato de Fisher.

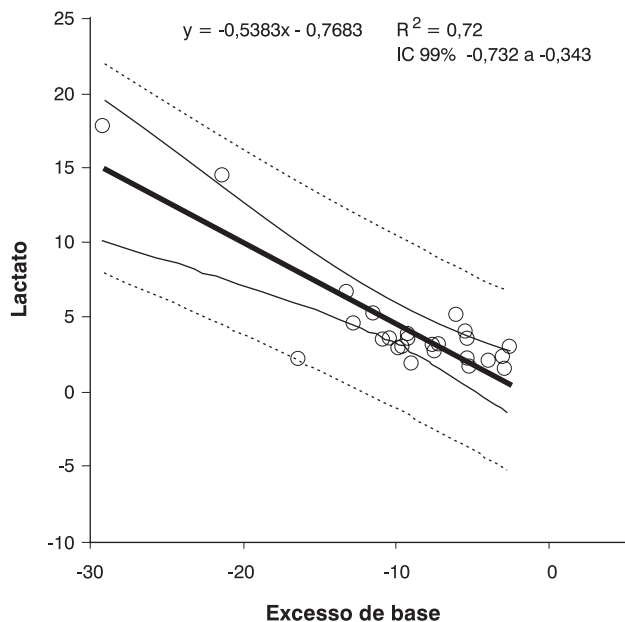


Figura 1 - Correlação entre lactato e EB
IC = intervalo de confiança; R^2 = coeficiente de correlação de regressão linear; y = coeficiente de inclinação

com uma área sob a curva ROC de 0,577 ($p = 0,26$), sensibilidade de 37,5% e especificidade de 82,4%, valor preditivo positivo de 50% e valor preditivo negativo de 73,6%. A área sob a curva ROC foi de 0,87 para a determinação de $pH < 7,2$, para o ponto de corte dos eritroblastos, com sensibilidade de 50% e especificidade de 88,2%. Os eritroblastos não se correlacionaram com o nível de oxigênio no sangue e PO_2 e mostraram uma correlação fraca com a saturação de oxigênio ($R^2 = 0,07$, $p = 0,018$) e PCO_2 ($R^2 = 0,33$, $p = 0,0027$). A contagem de eritroblastos e a dosagem de lactato apresentaram relação entre si ($R^2 = 0,4$, $p = 0,0008$), e a contagem de eritroblastos também mostrou uma fraca correlação com os escores de Apgar ($p = 0,03$ no 1º minuto e $p = 0,02$ no 5º minuto).

A dosagem de lactato e a contagem de eritroblastos não conseguiram prever complicações perinatais a curto prazo, com uma exceção: dentre os sete lactentes com contagem de eritroblastos igual ou superior a 10/100 leucócitos, três desenvolveram enterocolite necrotizante (42%, $p = 0,026$), e um caso apresentou perfuração do intestino. A dosagem de lactato e a contagem de eritroblastos não se correlacionaram com complicações maternas.

Discussão

O diagnóstico de hipóxia-isquemia ao nascimento é complicado, e a combinação de marcadores clínicos e dados laboratoriais seria útil para a identificação de prematuros com maior risco de dano cerebral⁴.

Amostras da artéria umbilical podem ser limitadas pelo pequeno volume e pela dificuldade na coleta, especialmente

em se tratando de cordões umbilicais finos. A veia umbilical, próxima ao local de inserção da placenta, pode ser uma alternativa para a amostragem, mas somente depois da dequitação. O metabolismo placentário e trocas gasosas continuam após a dequitação e ligadura, afetando as dosagens no sangue umbilical venoso. Isso se aplica principalmente às dosagens de oxigênio e PCO_2 , mas Nodwel et al. demonstraram que a concordância entre EB no sangue coletado do segmento placentário da veia umbilical, e no sangue coletado do segmento umbilical da veia ou artéria umbilical, é aceitável para fins clínicos¹⁰. Observamos que, no sangue coletado do segmento placentário da veia umbilical após a dequitação, a dosagem de lactato mantém a mesma boa correlação com o EB previamente relatado para as dosagens arteriais¹. Portanto, o lactato tem potencial como um instrumento simples e barato para o diagnóstico da acidose metabólica associada à hipóxia-isquemia em prematuros. Uma gasometria completa custa aproximadamente três vezes mais que uma dosagem de lactato.

Contagens elevadas de eritroblastos no sangue umbilical venoso apresentam correlação com asfixia fetal aguda e crônica¹². Pode haver a transferência de eritroblastos maternos para a circulação fetal quando a perfusão uteroplacentária está comprometida, mas isso não é significativo para as contagens (uma célula materna para pelo menos 100 células fetais)¹³. As contagens de eritroblastos na circulação placentária também se correlacionam com as contagens no sangue umbilical¹⁴. Esses fatos, combinados com a hipótese de que a contagem de eritroblastos no sangue umbilical venoso não é influenciada pelo metabolismo placentário e ligadura umbilical, tornam-na mais um instrumento para monitorar as condições de recém-nascidos prematuros. Descobrimos que as contagens de eritroblastos apresentam fraca correlação com o EB e pH, com baixa sensibilidade e valores preditivos positivos. A contagem de eritroblastos não deve ser recomendada para o diagnóstico clínico de rotina da acidose perinatal, pois os marcadores clássicos e dosagens de lactato ainda são mais apropriados.

Nem a dosagem de lactato nem a contagem de eritroblastos foram úteis, como marcadores individuais, em prever o desfecho a curto prazo. Casos de enterocolite necrotizante com contagens elevadas de eritroblastos foram relatados anteriormente¹⁵, sugerindo que as contagens de eritroblastos em prematuros podem ajudar a identificar grupos de risco. Há a necessidade de mais estudos prospectivos.

Referências

- da Silva S, Hennebert N, Denis R, Wayenberg JL. [Clinical value of a single postnatal lactate measurement after intrapartum asphyxia](#). Acta Paediatr. 2000;89:320-3.
- Hermansen MC. [Nucleated red blood cells in the fetus and newborn](#). Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2001;84:F211-5.

3. Schaefer M, Rowan RM. [The clinical relevance of nucleated red blood cell counts](#). *Sysmex J Int*. 2000;10:59-63.
4. Perlman JM, Risser R. [Can asphyxiated infants at risk for neonatal seizures be rapidly identified by current high-risk markers?](#) *Pediatrics*. 1996;97:456-62.
5. Korst LM, Phelan JP, Ahn MO, Martin GI. [Nucleated red blood cells: an update on the marker for fetal asphyxia](#). *Am J Obstet Gynecol*. 1996;175:843-6.
6. Buonocore G, Perrone S, Gioia D, Gatti MG, Massafra C, Agosta R, et al. [Nucleated red blood cell count at birth as an index of perinatal brain damage](#). *Am J Obstet Gynecol*. 1999;181:1500-5.
7. Ross MG, Gala R. [Use of umbilical artery base excess: algorithm for the timing of hypoxic injury](#). *Am J Obstet Gynecol*. 2002;187:1-9.
8. Chanrachakul B, Chua S, Nordstom L, Yam J, Arulkumaran S. [Umbilical artery blood gas and lactate in healthy newborns](#). *J Med Assoc Thai*. 1999;82:388-93.
9. Helwig JT, Parer JT, Kilpatrick SJ, Laros RK Jr. [Umbilical cord blood acid-base status: what is normal?](#) *Am J Obstet Gynecol*. 1996;174:1807-12.
10. Nodwell A, Carmichael L, Ross M, Richardson B. [Placental compared with umbilical cord blood to assess fetal blood gas and acid-base status](#). *Obstet Gynecol*. 2005;105:129-38.
11. [The CRIB \(clinical risk index for babies\) score: a tool for assessing initial neonatal risk and comparing performance of neonatal intensive care units](#). The International Neonatal Network. *Lancet*. 1993;342:193-8.
12. Ghosh B, Mittal S, Kumar S, Dadhwal V. [Prediction of perinatal asphyxia with nucleated red blood cells in cord blood of newborns](#). *Int J Gynaecol Obstet*. 2003;81:267-71.
13. Lo YM, Lo ES, Watson N, Noakes L, Sargent IL, Thilaganathan B, et al. [Two-way cell traffic between mother and fetus: biologic and clinical implications](#). *Blood*. 1996;88:4390-5.
14. Akyol D, Hajdu C, Ferber A, O'reilly-Green C, Giancotti FR, Dorsett BH, et al. [Fine-needle aspiration in the evaluation of nucleated red blood cells in the human placenta](#). *Am J Obstet Gynecol*. 2003;189:155-8.
15. Mandel D, Lubetzky R, Mimouni FB, Cohen S, Littner Y, Deutsch V, et al. [Nucleated red blood cells in preterm infants who have necrotizing enterocolitis](#). *J Pediatr*. 2004;144:653-5.

Correspondência:

Orlei Araujo
Alameda Rio Claro, 95/74, Bela Vista
CEP 01332-010 – São Paulo, SP
Tel.: (11) 5084.4844, (11) 9404.5905
Fax: (11) 5563.9331, (11) 5084.4844
E-mail: orlei@uol.com.br